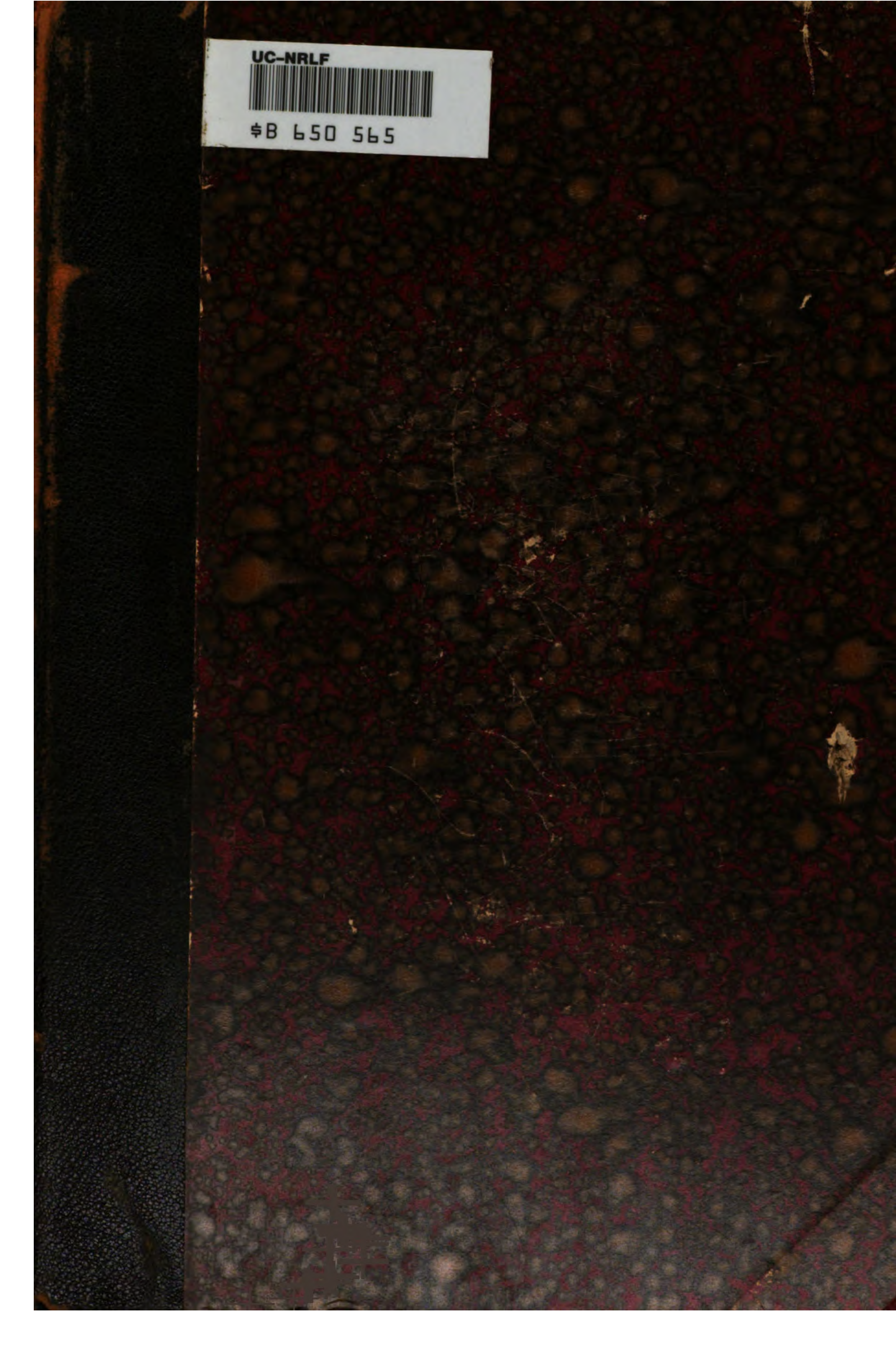
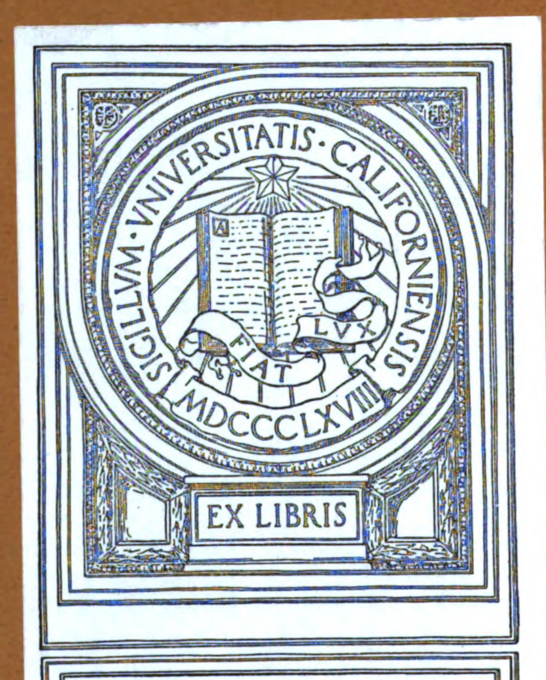

UC-NRLF
$B 650 565


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



Biochemische Zeitschrift.

Herausgegeben von

E. Buchner-Berlin, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Fünfter Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1907.

Spamersche Buchdruckerei in Leipzig-R.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Michaelis, Leonor und **Th. A. Maass.** Der Gang der Ausscheidung körperfremder Substanzen. II. 1

Tswett, M. Zur Chemie des Chlorophylls. Über Phylloxanthin, Phyllocyanin und die Chlorophyllane 6

Levene, P. A. und **J. A. Mandel.** Über die Analyse der Spaltungsprodukte des Milz-Nucleoproteids 33

Wohl, A. Die neueren Ansichten über den chemischen Verlauf der Gärung 45

Belonowski, G. Zur Frage der Beziehungen der Toxine zu den Zellenelementen des Organismus 65

v. Liebermann, L. und **B. v. Fenyvessy.** Über die Wirkung der Verdünnung auf natürliches und künstliches Normal- und Immunserum 99

v. Fenyvessy, B. Über die hämatolytische Wirkung der Gallensäuren und ihrer Salze 114

Fuld, E. und **J. Wohlgemuth.** Über eine neue Methode zur Ausfällung des reinen Caseins aus der Frauenmilch durch Säure und Lab sowie über die Natur der labhemmenden Wirkung der Frauenmilch 118

Müller, Erich. Stoffwechselversuche an 32 Kindern im 3. bis 6. Lebensjahre mit besonderer Berücksichtigung des Kraftwechsels auf Grund direkter calorimetrischer Bestimmungen 143

Österberg, Emil und **Charles G. L. Wolf.** Eiweiß-Stoffwechsel beim Hund. I. 304

Marchlewski, L. Zur Chemie des Chlorophylls 344

Heller, G. Bemerkung zur Theorie der Molekularschwingungen . . 346

Loeb, Jacques. Über die anticytolytische Wirkung von Salzen mit zweiwertigen Metallen 351

Vandevelde, A. J. J. Über hämolytische Wirkungen isomerer Verbindungen 358

Rona, P. und **L. Michaelis.** Weitere Beiträge zur Methodik der Enteiweißung 365

Bayer, Gustav. Untersuchungen über die Gallenhämolyse. I. . . 368

Brunner, J. und **S. N. Pinkus.** Beiträge zur Reindarstellung der Antitoxine. I. 381

Seite

Ascoli, M. und **G. Izar.** Physiopathologische Wirkung kolloidaler Metalle auf den Menschen 394

Langstein, Leo. Zur Frage nach der Einwirkung verdünnter Schwefelsäure auf Eiweißstoffe 410

Aron, Hans. Die Einwirkung von Farbstofflösungen auf die Hitzekoagulation von Eiweißlösungen 413

Jolles, Adolf. Notiz über die stickstoffhaltigen Harnbestandteile . 419

Schmidt, W. A. Untersuchung über die Erzeugung hochwertiger Muskeleiweiß-Antisera für die Fleischdifferenzierung 422

Neuberg, C. und **B. Brahn.** Über die Inosinsäure 438

Neuberg, C. und **E. Ascher.** Notiz über Desaminocystin und Aminoäthandisulfid 451

Neuberg, C. und **E. Rosenberg.** Über die α-Naphthylisocyanatverbindungen einiger Aminosäuren 456

Der Gang der Ausscheidung körperfremder Substanzen.

2. Mitteilung.

Die Ausscheidungskurve der Borsäure.

Von

Leonor Michaelis und Th. A. Maass.

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban und dem pharmakologischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 12. Juni 1907.)

Um die angenommene Behauptung[1]) prüfen zu können, daß die Ausscheidung einer körperfremden Substanz durch die Niere in jedem Augenblick proportional der jeweilig im Blute zirkulierenden Menge dieser Substanz ist, muß man sich nach einer für diese Untersuchungen geeigneten Substanz umsehen. Sie muß folgende Eigenschaften haben: sie muß ungiftig für die Nieren sein, sie muß ausschließlich durch den Harn ausgeschieden werden, ihr Ausscheidungsgang muß unabhängig von der aufgenommenen Wassermenge sein, und sie muß wenigstens für eine genügende Zeit ausschließlich in der Zirkulation verbleiben, ohne in die Körpergewebe zu diffundieren. Allen diesen Bedingungen schien uns nun die Borsäure in besonders hohem Maße zu genügen. Die anläßlich der vor wenigen Jahren ausgefochtenen Kontroversen über die Borsäure von verschiedenen Autoren angestellten Selbstversuche haben bewiesen, daß eine Dosis von mehreren Grammen Borsäure absolut harmlos ist — mag man nun über die Schädlichkeit einer gewohnheitsmäßigen Borsäuredarreichung denken, wie man will. Gleichzeitig haben diese Versuche gelehrt[2]), daß die anderen Ausscheidungsquellen, wie Schweiß, Kot, Speichel, Milch, von solcher Größenordnung

---

[1]) Vgl. L. Michaelis, Diese Zeitschr. **4**, 542.

[2]) Vgl. darüber E. Rost, Zur Kenntnis der Ausscheidung der Borsäure, nebst einem Anhange: Borsäureliteratur. Arch. internat. de Pharmacodyn. **15**, 291, 1905. Daselbst weitere Literatur.

sind, daß sie gegenüber der Ausscheidung durch den Harn während der ersten 24 Stunden vernachlässigt werden können. Ferner ist, wie aus den Versuchen von Rost hervorgeht, der Gang der Ausscheidung in weiten Grenzen unabhängig von der Wasseraufnahme. Was schließlich die letzte Bedingung betrifft, daß die Substanz für längere Zeit allein im Blute bleiben und nicht in die Gewebe dringen darf, so werden wir sehen, daß diese zwar nicht ganz erfüllt ist, aber daß diese Diffusion im Vergleich zur Ausscheidung durch die Nieren so träge ist, daß sie sich erst nach länger als 12, manchmal erst nach länger als 24 Stunden bemerkbar macht.

Da nun über die Ausscheidung der Borsäure durch die Untersuchungen von Rost ein ausgedehntes und sehr sorgfältig durchgearbeitetes Material vorliegt, so hatten wir nur nötig, die von ihm gewonnenen Zahlen einer Prüfung auf die verlangte Gesetzmäßigkeit zu unterziehen. Wir finden diese nun in der Tat aufs beste bestätigt. Wie vorauszusehen war, ergeben die Werte für $\frac{1}{t_2 - t_1} \log \frac{a - x_1}{a - x_2}$ keine Konstanz, wenn man als Anfangszeit die Zeit der Einnahme der Borsäure rechnet. Von der fünften Stunde nach dieser Zeit ab werden die Werte aber konstant.

Tabelle I. Versuchsperson Rost.

A in Stunden	Stündlich ausgeschiedene Menge in g	$a-x$ in g	10000 k von verschiedenen Anfangspunkten aus gerechnet.				
0	0	3,0					
1	0,085	2,915	125				
2	0,230	2,685	241	357			
3	0,233	2,452		289	393		
4	0,206	2,246			387	381	
5	0,146	2,100			355	336	**292**
6	0,146	1,954				329	**303**
7	0,150	1,804					**317**
8	0,107	1,697					**304**
9	0,102	1,595					**297**
10	0,105	1,490					**297**
11	0,107	1,383					**301**
12	0,112	1,271					**304**

Nach Ablauf von spätestens 24 Stunden, niemals aber früher als nach 12 Stunden, beginnt das Gesetz zu versagen, indem die beobachtete Ausscheidungsgröße hinter der erwarteten zurückbleibt. Das liegt nach dem Gesagten daran, daß die Borsäure aus der Zirkulation allmählich in die Gewebe diffundiert, aus denen sie erst spät, wenn die Gesamtkonzentration des Blutes an Borsäure sehr gering geworden ist, wieder ins Blut zurücktritt. Es ist möglich, daß es gelingen wird, diesen Umstand mit in Rechnung zu ziehen. Vorläufig wollen wir aber darauf verzichten. Unter alleiniger Berücksichtigung der ersten 12 Stunden sehen wir, daß es gelingt, eine hinreichend genaue Bestimmung der „Ausscheidungskonstanten“ zu machen. Es würden dazu gegebenenfalls drei Analysen genügen, die erste 5 Stunden, die zweite etwa 7, die dritte 10 Stunden nach Aufnahme von 3 g Borsäure. Schon aus den vorliegenden Daten sehen wir, daß die gesunde Niere bei verschiedenen Individuen kleine aber konstante Verschiedenheiten zeigt; so hat Rost eine Ausscheidungskonstante stets von rund 300, Weitzel eine solche von 210—240. Es ist keine Frage, daß unter pathologischen Verhältnissen noch viel erheblichere Schwankungen vorkommen werden. Wir hoffen, auf diesen Punkt zurückkommen zu können und auf diesem Wege

Tabelle II. Versuchsperson Rost.

Δ in Stunden	$a-x$ in g	$k \cdot 10^4$				
0	3,000					
1	2,945	80				
2	2,743	194	309			
3	2,465	284	387	464		
4	2,240		396	440	416	
5	2,080			400	368	**321**
6	1,920			387	362	**334**
7	1,800				341	**316**
8	1,680				333	**312**
9	1,579					**304**
10	1,478					**301**
11	1,377					**302**
12	1,276					**305**
24	(0,722)					(246)
48	(0,288)					(202)
72	(0,131)					(181)

eine rationelle Methode ausarbeiten zu können, um die Funktion der gesunden und kranken Nieren zahlenmäßig auszudrücken.

Die den Tabellen I—V zugrunde liegenden Beobachtungszahlen sind der Arbeit von E. Rost, „Zur pharmakologischen Beurteilung der Borsäure unter besonderer Berücksichtigung ihrer Ausscheidung“, Verhandl. d. physiol. Gesellsch., Berlin, 22. Februar 1903, entnommen.

Tabelle III. Versuchsperson Weitzel.

A in Stunden	*a—x* in g	k · 10⁴				
0	3,000					
1	2,878	192				
2	2,672	251	311			
3	2,483		314	318		
4	2,328		309	308	299	
5	2,210		284	275	253	**207**
6	2,100		271	261	243	**214**
7	1,995		263	254	238	**217**
8	1,912			242	227	**209**
9	1,802				232	**219**
10	1,711					**220**
11	1,625					**220**
12	1,556					**216**

Tabelle IV. Versuchsperson Weitzel.

A in Stunden	*a—x* in g	k · 10⁴				
0	3,000					
1	2,849	224				
2	2,655	265	306			
3	2,484	273	298	299		
4	2,327	276	293	287	284	
5	2,199		281	273	265	**246**
6	2,082			264	256	**242**
7	1,962				256	**244**
8	1,859					**244**
9	1,774					**251**
10	1,675					**238**
11	1,585					**238**
12	1,504					**237**

Tabelle V. Versuchsperson Weitzel.

A in Stunden	$a-x$ in g	$k \cdot 10_4$			
0	3,000				
1	2,873	188			
2	2,681	244	300		
3	2,496	266	305	311	
4	2,366		281	271	**232**
5	2,241		270	260	**234**
6	2,091		261	270	**256**
7	2,003		241	253	**239**
8	1,905			231	**236**
9	1,804				**235**
10	1,713				**234**
11	1,619				**235**
12	1,525				**237**
24	0,819				**230**
48	0,440				(168)
72	0,163				(172)

Wir sehen also, daß aus der Ausscheidungskurve der Borsäure ein ziemlich bedeutendes mittleres Stück dem supponierten Gesetze folgt, daß die Ausscheidungsgeschwindigkeit proportional der noch nicht ausgeschiedenen Substanzmenge ist. Der Anfangs- und Schlußteil der Kurve zeigt jedoch Abweichungen, für die wir uns vorläufig eine Erklärung zu geben bemüht haben. Es wird sich darum handeln, ob diese Erklärungen für alle Fälle zureichend sind, oder ob nicht doch prinzipielle Abweichungen vom Grundgesetz vorliegen.

Zur Chemie des Chlorophylls. Über Phylloxanthin, Phyllocyanin und die Chlorophyllane.

Von

M. Tswett.

(Aus dem phytophysiologischen Institut der Universität Warschau.)

Mit einer Textfigur.

(Eingegangen am 14. Juni 1907.)

Die regelrechte chemische Untersuchung einer Substanz pflegt mit der Darstellung dieser letzten in reinem Zustande anzufangen. So geschah es nicht mit dem „Chlorophyll“, dem vermeintlichen grünen Teilfarbstoff der Blätter. Es wird manchem als paradoxal klingen, es läßt sich aber streng beweisen, daß das bisherige Objekt der „Chemie des Chlorophylls“ ein Mythus gewesen ist. Auf Grund unvollständiger Analyse des komplexen Farbstoffgemisches, welches das Blattgrün darstellt, entstand die irrige, noch jetzt allgemein herrschende Meinung, dasselbe sei aus einer grünen und einer oder einigen gelben Komponenten zusammengesetzt. Die erstere belegte man mit dem Namen Chlorophyll, welche aber etymologisch wie historisch nur dem gesamten, die Färbung der Vegetation bedingenden Farbstoffgemisch gehört. Dies „Chlorophyll“ wurde nun zu verhängnisvollem Idolum fori. Alle in der linken Spektrumhälfte absorbierenden Produkte, welche man durch Einwirkung chemischer Agenzien auf alkoholische Pflanzenextrakte erhielt, wurden als Derivate dieses hypothetischen Chlorophylls betrachtet. So entstand z. B. die Lehre, daß „Chlorophyll“ sich unter Einwirkung der Säuren in Phylloxanthin und Phyllocyanin zerspaltet.

Zwar hatten schon vor langem Stokes und Sorby dargetan, daß im Chlorophyll wenigstens zwei fluoreszierende, in der linken Spektrumhälfte absorbierende Farbstoffe vorhanden sind; diese Arbeiten blieben aber unglücklicherweise lange Zeit unbeachtet,

obgleich deren erwähntes Resultat seitens Sachsse (S. 332) und Hartley Bestätigung fand. Marchlewski und C. A. Schunck, welche vor einigen Jahren die Experimente Sorbys und Hartleys wiederholten, kamen ebenfalls zur Bestätigung der Stokes-Sorbyschen Entdeckung betreffend die Doppelart der fluorescierenden, rotabsorbierenden Farbstoffe des Chlorophylls, sie verkannten aber den richtigen Tatsachenbestand und glaubten z. B., daß der „zweite grüne Farbstoff", von Marchlewski (III) als Allochlorophyll bezeichnet, dem „Chlorophyll" nur in sehr geringen Mengen beigemischt sei und keinen Einfluß auf das Spektrum einer Chlorophyllösung ausübe. Die Isolierung der Farbstoffe gelang aber Marchlewski und Schunck nicht. Das „Allochlorophyll" wurde nicht frei von gelben Farbstoffen gemacht (S. 254). Das Hauptpigment glauben zwar die Autoren rein erhalten zu haben, da es aber hinter der Linie F drei Absorptionsbänder zeigte, so ist diese Vermutung nicht zutreffend[1]). Nach Sorbys richtigen Befunden fehlt das erste dieser Bänder dem Farbstoff vollständig. Mittels der bisher angewandten Methoden der Entmischung des Chlorophyllkomplexes — Verteilung in zweiphasigen Systemen — ist es auch sehr schwierig, wenn nicht unmöglich, befriedigende Trennungen zu erzielen, weil eben das Farbstoffgemisch ein zu komplexes ist. Um die Sache weiter zu bringen, waren neue Methoden erforderlich. Eine solche, welche das Problem in fast idealer Weise löst, liegt in der von mir begründeten Adsorptionsanalyse vor. Indem ich für alle Einzelheiten auf meine bereits publizierten Abhandlungen[2]) verweise, will ich hier nur die Prinzipien der Methode erläutern. Wie ich gefunden habe, besitzen mehrere organische Flüssigkeiten, wie Benzin, Petroläther, Pentan, Benzol, Xylol, Schwefelkohlenstoff, Tetrachlorkohlenstoff, die merkwürdige Eigenschaft, daß die in denselben zur Lösung gebrachten Farbstoffe (oder farblose Substanzen) durch allerlei pulverförmige Körper mehr oder weniger vollständig niedergeschlagen werden, indem sie an

---

[1]) M. Tswett, Zur Geschichte der Chlorophyllforschung. Ber. d. deutsch. botan. Ges. 25, 71, 1907.

[2]) M. Tswett, Physikalisch-chemische Untersuchungen über das Chlorophyll (Ber. d. deutsch. botan. Ges. 24, 316, 1906). Adsorptionsanalyse und chromatographische Methode. Anwendung auf die Chemie des Chlorophylls (Ibid. 24, 384, 1906).

der Oberfläche dieser letzten **adsorbiert** werden. Aus den sich dabei bildenden physikalischen Adsorptionsverbindungen lassen sich die Stoffe mittels Alkohols, Acetons, Äthers oder Chloroforms befreien.

Nehmen wir z. B. eine Lösung des Chlorophylls in Petroläther. Schütteln wir dieselbe mit einem Überschuß von pulverförmigem $CaCO^3$, so werden alle Farbstoffe niedergerissen, ausgenommen das Carotin, welches in Lösung verbleibt (quantitative Carotintrennung). Es genügt aber, dem Lösungsmittel einige Tropfen Alkohol zuzusetzen, um momentan alle Farbstoffe wieder in Lösung zu bringen. Anstatt $CaCO^3$ können wir mit demselben Resultat ein irgend welches chemisch inaktives Pulver verwenden. Somit bilden die Farbstoffe mit den pulverförmigen Körpern physikalische Adsorptionsverbindungen. Sie besitzen aber dabei die wichtige Eigenschaft, sich aus ihren Adsorptionsverbindungen gegenseitig zu verdrängen, und dies einer gewissen Reihe, der **Adsorptionsreihe**, gemäß. Auf dieser Eigenschaft habe ich die „**chromatographische Analyse**" begründet. Nehmen wir abermals die genannte Chlorophyllösung in Petroläther und lassen dieselbe durch eine Säule eines passenden Adsorbentes (am besten $CaCO^3$) durchfiltrieren, so werden die Farbstoffe physikalisch niedergeschlagen, verjagen sich aber gegenseitig und ordnen sich der Adsorptionsreihe gemäß in so viel verschieden gefärbte Zonen, wie es verschiedene Teilfarbstoffe vorhanden sind. Es bleibt nur noch die tingierte Säule (das „Chromatogramm") mit dem Skalpell methodisch zu zerlegen und die verschiedenen Farbstoffe mit passenden Lösungsmitteln zu extrahieren. Wie die verschiedenen Lichtstrahlen im Glasprisma, so werden die verschiedenen Farbstoffe eines Gemisches in der Adsorptionssäule auseinandergetrennt und dem Auge des Forschers nebeneinander vorgelegt.

Die Zusammensetzung des Chlorophylls. Die Chlorophylline.

Die chromatographische Adsorptionsanalyse erlaubt die Zusammensetzung des Chlorophylls, d. h. des gesamten Blattpigmentes endgültig festzustellen. Dasselbe erweist sich als ein Gemisch von wenigstens sieben Farbstoffen. Fünf von denselben, unter anderen das Carotin, sind als gelbe Farbstoffe zu bezeichnen

und besitzen weder Fluorescenz noch Absorptionsbänder in der linken langwelligen Spektrumhälfte. Die zwei übrigen Farbstoffe, die Chlorophylline[1]), bilden zusammen die vermeintliche „grüne Komponente", welche bisher den Forschern vorgeschwebt hat. Der eine von diesen Farbstoffen, das quantitativ überlegene Chlorophyllin *α*, besitzt in konzentrierter ätherischer Lösung eine rein indigoblaue Farbe, während das Chlorophyllin *β* eine chlorophyllgrüne Färbung aufweist.

Beide besitzen zwischen *B* und *G* Fraunhofers sechsbändige Absorptionsspektren. Eine ausführliche Untersuchung dieser Absorptionsspektren habe ich bereits veröffentlicht (Tswett VIII.) Indem ich auf die Abhandlung sowie auf die dabeigelegte Spektraltafel verweise, glaube ich hier die Lage der zwei wichtigsten, als charakteristisch zu bezeichnenden Absorptionsbänder der Chlorophylline wiedergeben zu dürfen. Es ist eine ätherische Lösung gemeint und die Zahlen bedeuten zehnfache Ångströmeinheiten.

	Band I <	Band VI
Chlorophyllin *α*	655—667	426—438
Chlorophyllin *β*	636—646	448—462

Außer den in der zitierten Abhandlung gegebenen, bei Welsbachscher Beleuchtung bestimmten Absorptionsbändern besitzt noch Chlorophyllin *β* ein schwaches, bei 430—420 liegendes VII. Band, welches aber nur in Sonnenlicht deutlich zu sehen ist.

Die Säurederivate der Chlorophylline. Die Chlorophyllane.

Die Chlorophylline sind sehr labile Stoffe, welche unter Einfluß der Säuren sowie der Alkalien durch tiefgreifende Spektral-

[1]) Timiriazef, der Urheber des Wortes Chlorophyllin, bezeichnete zwar damit eine Substanz, die sich später als ein Derivat erwiesen hat, er dachte sich aber darunter einen genuinen Teilpigment des Chlorophylls, und in derselben Deutung wurde später diese Bezeichnung systematisch von Timiriazef, von Schütt, von Nadson und von mir (I—VI) verwendet. Wenn deswegen Willstätter in seiner vor kurzem erschienenen Abhandlung (S. 57) das Wort Chlorophyllin wieder für gewisse Derivate benutzen will, so sind dagegen ebenso historische wie Zweckmäßigkeitsgründe zu erheben. Es wäre wohl ratsam, die Willstätterschen Derivate im Anschluß an Tschirch als Chlorophyllinsäuren zu bezeichnen. Die genuinen Chlorophylline der Pflanzen wären dann, den Willstätterschen Ansichten nach, als Ester der Chlorophyllinsäuren zu betrachten.

änderungen dokumentierte Modifikationen erleiden. Es ist dies, besonders betreffs der Säurewirkung, eine insofern altbekannte Tatsache, als man von jeher die Farben- und Spektralmodifikationen des gesamten Chlorophyllfarbstoffes beobachtet und wiederholt studiert hat. Ein wirklich unverändertes Chlorophyllspektrum haben zwar die meisten Autoren nicht beobachtet, weil eben die Pflanzengewebe in ihren Zellsaftvakuolen durchgängig Säuren enthalten, welche bei der Extraktion der Farbstoffe mehr oder weniger dieselben alterieren. Merkwürdigerweise haben nur wenige Forscher daran gedacht, diesem einem jeden Physiologen wohl bewußten Übel vorzubeugen. Die im allgemeinen allein zulässige schnelle Extraktion des zerriebenen, mit einem die Säuren abstumpfenden schwach basischen Körper [$CaCO_3$, $(NH_4)_2CO_3$, MgO, Glaspulver] versetzten Gewebes ist vor mir wohl nur durch Sorby, Gautier und Hartley vorgenommen worden.

Als Hoppe-Seyler das Studium des „Chlorophylls“ in Angriff nahm, glaubte er behufs Darstellung des vermeintlichen grünen Farbstoffes sich von dem Pflanzenwachs befreien zu müssen. Darum bearbeitete er das verwendete Gras mehrere Tage mit Äthyläther. Es kann wohl dabei epidermales Wachs herausgelöst werden, die Zellen werden aber schnell getötet, die Plasmahäute büßen ihre physiologische Hemipermeabilität ein und die Säuren des Zellsaftes wirken auf die Farbstoffe ein. Im Resultate bekommt man keine genuinen, sondern zersetzte Farbstoffe. Einen solchen erhielt auch Hoppe-Seyler und benannte ihn Chlorophyllan. Er dachte sich damit eine einheitliche Substanz, ein Derivat des ebenfalls einheitlichen „Chlorophylls“.

Dasselbe Chlorophyllan glaubte man später in anderer Weise zu erhalten (Tschirch, S. 47, Meyer). Zweifelsohne sind solche Präparate insofern mit dem Hoppe-Seylerschen übereinstimmend, als sie unter anderem dieselben Chlorophyllinderivate enthalten; die Beimengungen sind aber notgedrungen verschieden. Meyers Chlorophyllan, in mikrochemischer Reaktion dargestellt, enthält gewiß den gesamten zersetzten Chlorophyllfarbstoff. Auch hat Bode (S. 13) in seinem Chlorophyllan Xanthophyllfarbstoffe nachgewiesen, ebenfalls Macchiati. Überhaupt ist die chemische Individualität des

Chlorophyllans eine hypothetische geblieben. Zwar ist Hoppe-Seylers Chlorophyllan nicht ein Gemenge von „Phylloxanthin" und „Phyllocyanin", wie es Marchlewski glaubte, es ist aber, meinen Untersuchungen nach, als ein Gemenge von zwei Chlorophyllanen zu betrachten, welche von den beiden Chlorophyllinen stammen.

Um diese nächsten Säurederivate der Chlorophylline zu erhalten, habe ich verschiedene Wege eingeschlagen.

a) Es wurden in der in meinen früheren Publikationen genau erörterten Weise reine Lösungen der Chlorophylline, jedes für sich, dargestellt, und dieselben mit organischen Säuren behandelt. Die alkoholischen Lösungen werden am besten mit Oxalsäure, die petrolätherischen mit Essigsäure versetzt. Nach vollständiger Verfärbung wird die petrolätherische Lösung (aus Alkohol lassen sich die Farbstoffe sehr leicht in Petroläther überführen) behufs Entfernung der Säure mehrmals mit Wasser ausgeschüttelt. Die chemische Homogenität der erhaltenen zersetzten Farbstoffe wurde mittels der chromatographischen Adsorptionsanalyse geprüft. Es zeigte sich bei diesem Verfahren, daß jedes Chlorophyllin unter Einfluß der H-Ionen sich zunächst zu einem einzigen besonderen, spektroskopisch scharf charakterisierten Farbstoff zersetzt.

b) Es wurden frische Blätter (ich benutzte vornehmlich Taxus baccata, welches zu jeder Zeit reichlich zu erhalten ist) unter Oxalsäurezusatz mit feinem Schmirgel zerrieben und dann mit Petroläther (unter weiterem Verreiben) extrahiert. Um eine ausgiebigere Herauslösung des Pigmentes zu erzielen, ist es ratsam, dem Petroläther etwas ($^1/_{10}$) Alkohol zuzusetzen. Auch kann man den ohne Oxalsäure hergestellten Pflanzenbrei mittels essigsäurehaltenden Petroläthers extrahieren. In jedem Fall wird die filtrierte petrolätherische Lösung des zersetzten Chlorophylls behufs Entfernung der Säure und eventuell des Alkohols gründlich im Scheidetrichter mit Wasser ausgewaschen.

Sodann wird dieselbe der chromatographischen Zerlegung auf $CaCO_3$ unterworfen. Die Chlorophyllinderivate erscheinen nun als eine braungelbgrüne und eine mächtigere stahlgraue Zone, welche in sehr willkommener Weise durch einen Xanthophyllring getrennt auftreten. Unter Zuhilfenahme der unter a)

angeführten Methode läßt sich feststellen, daß der den stahlgrauen Ring bedingende Farbstoff von Chlorophyllin *a* stammt, während das quantitativ zurücktretende Chlorophyllin *β* den braungelbgrünen Farbstoff als Derivat liefert. Die beiden Derivate bezeichne ich demgemäß als Chlorophyllane *a* und *β*.

Diese Chlorophyllane werden nun aus ihren Adsorptionsverbindungen mittels alkoholhaltigen Petroläthers befreit und von etwaigen anhaftenden Spuren der Xanthophylle mittels Ausschüttelung mit 80 prozentigem Alkohol gereinigt[1]).

Man kann sich auch Chlorophyllane darstellen, indem man z. B. Grasblätter längere Zeit mit Wasser aufkocht, dieselben dann unter Zerreibung mit Schmirgel mittels Petroläthers auszieht und die Auflösung chromatographisch zerlegt. Die Chlorophylline erscheinen dann mehr oder weniger vollständig in Chlorophyllane verwandelt, besonders Chlorophyllin *a*, welches der bei der Aufkochung stattfindenden Säurewirkung schneller als sein Trabant anheimfällt. Eine jede Chlorophyllösung enthält übrigens, wenn auch nur spurweise, etwas Chlorophyllan *a*, welches durch Bildung eines stahlgrauen Ringes im Chromatogramme sich kennzeichnet.

Das Chromatogramm des oben erwähnten Petrolätherextraktes aus abgekochten Blättern gestaltet sich folgendermaßen:

I. Zone, farblos; II., gelb (Xanthophyll *β*); III., gelbgrün (Chlorophyllin *β*); IV., blaugrün (Chlorophyllin *a*); V., gelb (Xanthophylle *a'* und *a''*); VI., braungelbgrün (Chlorophyllan *β*); VII., gelb (Xanthophyll *a*); VIII., stahlgrau (Chlorophyllan *a*). Das Carotin wird von $CaCO_3$ nicht adsorbiert und geht durch.

Eigenschaften der Chlorophyllane.

Es ist eine wichtige Eigenschaft der chromatographischen Adsorptionsanalyse, daß sie über die chemische Individualität eines Farbstoffes leicht Aufschluß gibt, indem ein einheitlicher Farbstoff eine homogene Adsorptionszone liefert, welche sich auch beim Durchlassen anderer, die Adsorptionsverbindung nicht zerstörender Lösungsmittel homogen bleibt. Die Wahr-

[1]) Die Chlorophyllane sind in der Kr a u s schen Entmischung exquisit „epiphasisch", d. h. sie nehmen die obige petrolätherische Phase ein.

scheinlichkeit ist nämlich eine verschwindend kleine, daß zwei Stoffe verschiedenen Lösungsmitteln gegenüber den gleichen Rang in der Adsorptionsreihe behaupten und somit eine gemischte Adsorptionsverbindung bilden. Unsere Chlorophyllane verhalten sich auch durchaus als chemische Individuen; ihre Adsorptionszonen aus petrolätherischer Lösung werden beim Durchlassen von C_6H_6 oder CS_2 nicht inhomogen gemacht, und damit übereinstimmend, liefern ihre Lösungen in den genannten Lösungsmitteln ebenfalls einheitliche Adsorptionsringe. Es wurden vorläufig von mir die spektroskopischen Eigenschaften der Chlorophyllane sowie ihr Verhalten gegen Alkalien und starke Säuren studiert.

Spektralanalyse der Chlorophyllane. Das spektroskopische Studium geschah mittels des für solche Untersuchungen so ausgezeichneten Zeißschen Spektralokulares, wobei als Lichtquelle ein Welsbachscher Brenner diente. Betreffs der eingehaltenen methodischen Kautelen vgl. Tswett VIII. Die Untersuchung der Lösungen geschah in verschiedenen Konzentrationen, was für eine zureichende Charakterisierung der Farbstoffe unentbehrlich, leider aber oft vermißt wird. Folgende Tabellen sind für ätherische Lösungen entworfen und geben die Absorptionsparameter in zehnfachen Ångströmeinheiten an.

Die am meisten charakteristischen Spektralbilder stellt die folgende Zeichnung dar.

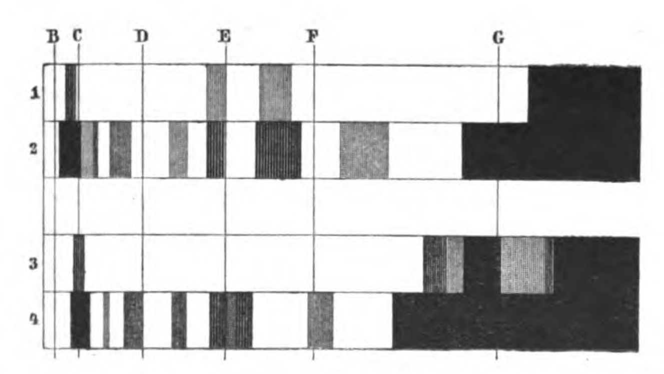


Fig. 1. Chlorophyllan α in ätherischer Lösung; schwache Konzentration.
Fig. 2. Dasselbe; achtfache Konzentration.
Fig. 3. Chlorophyllan β in ätherischer Lösung; schwache Konzentration.
Fig. 4. Dasselbe; achtfache Konzentration.

Chlorophyllan *a* Band	Konzentration x	$2x$	$4x$	$8x$	$16x$	$32x$
I	660–670	660–670	658–675	652–678	650–680	645–682
II	—	—	—	—	632–638	632–638
III	—	—	—	600–615	600–620	600–628
IV	—	—	—	—	Spuren	552–568
V	—	Spuren	530–539	530–539	530–539	528–540
VI	—	Spuren	495–510	495–510	492–511	490–515
VII . . .	—	—	—	—	Spuren	462–478
Endabsorption	von 425 <	von 425 <	von 430	von 435	von 440	von 445

Intensitätsskala der Bänder: I > V = VI > III > IV > II = VII.

Chlorophyllan *β* Band	Konzentration x	$2x$	$4x$	$8x$	$16x$	$32x$
I	650–660	650–660	650–660	642–665	640–670	632–670
II	—	—	—	Spuren	622–628	622–628
III	—	—	Spuren	592–608	590–610	590–612
IV	—	—	Spuren	552–563	551–565	550–566
V	—	—	530–539	530–539	513–540	510–540
VI	—	—	515–522	515–522		
VII . . .	—	—	—	Spuren	480–490	480–490
VIII . . .	448–452					
IX	430–440	von 452	von 455	von 460	von 465	von 470
Endabsorption	von 420					

Intensitätsskala der Bänder: IX > VIII > I > V = VI > III = IV > VII > II.

Wie aus den mitgeteilten Tabellen ersichtlich, besitzen die Absorptionskurven der Chlorophyllane steile Abhänge und flache Gipfel, welche sich bei abnehmender Konzentration enthüllen und die beiden Farbstoffe äußerst scharf charakterisieren. Wie man sieht, differieren die Chlorophyllanspektren untereinander besonders durch die Lage des ersten Bandes im Rot sowie durch die Streifen im Grün und Blau. Chlorophyllan *a* hat die für „modifiziertes Chlorophyll“ oder „Chlorophyllan“ als Bänder IV und IVb altbekannte Absorptionsstreifen, während Chlorophyllan *β* ein in ätherischer Lösung doppeltes, in alkoholischer aber mehr einheitliches Band auf *E* und *b* aufweist, sowie das heterodyname Doublet auf 450 und zwischen 430—440. Man wird

auch bemerken, daß im großen und ganzen diese Spektren denjenigen der als Phyllocyanin und Phylloxanthin bekannten Produkte ähneln. Ich werde auch weiter zeigen, daß diese letzten eben aus Chlorophyllan α und Chlorophyllan β stammen.

Verhalten gegen Alkalien. Schüttelt man ätherische Lösungen der Chlorophyllane mit wässeriger 10 prozentiger Kalilauge auf, so nimmt diese letzte keine Spur des Farbstoffes auf. Es sind demnach den Chlorophyllanen keine saure Eigenschaften zu vindizieren. Gießt man der über Kalilauge schwimmenden ätherischen Lösung des Chlorophyllans einige Tropfen Methyl- oder Äthylalkohol zu, so tritt ein bemerkenswerter Farbenumschlag ein. Die graugrüne Lösung des Chlorophyllans α färbt sich nämlich brillant gelbgrün, während die gelbbraune Lösung des Chlorophyllans β eine prächtige rosarote Farbe annimmt. Beide Färbungen sind vorübergehend; nach einiger Zeit, besonders unter Umrühren, werden die originellen Färbungen wiederhergestellt. Spektralanalytisch erscheinen die genannten Farbenumschläge durch Verblassen aller Bänder in Rot und Gelb bedingt, während zugleich bei Chlorophyllan α das VI. Band, bei Chlorophyllan β das Doublet V und VI beidenfalls sich zu einem sehr schwarzen Streifen potenzieren.

Verhalten gegen Säuren. Werden ätherische Lösungen der Chlorophyllane (oder der Chlorophylline) mit Salzsäure oder Schwefelsäure aufgeschüttelt, so findet eine Verteilung des Farbstoffes in den beiden Phasen statt. Der Verlauf der Reaktion ist in hohem Grade von der Konzentration der Säure abhängig. Für die Salzsäure habe ich die den Volumgewichten 1,19, 1,5 und 1,12 entsprechenden Konzentrationen — d. h. resp. (abgerundet) 37%, 30% und 25% HCl — studiert. Was die Schwefelsäure betrifft, so wurde ein Gemisch von 4 Vol. H_2SO_4 und 1 Vol. Wasser verwendet.

Wird eine ätherische Lösung des Chlorophyllans α mit Salzsäure 1,19 in für Bildung zweier Phasen passendem Verhältnis geschüttelt, so löst sich der größte Teil des Farbstoffes unter prächtiger Blaufärbung in der Säurephase, während die ätherische Schicht in weniger gesättigter graugrüner Farbe erscheint. Durch wiederholte Ausschüttelung der ätherischen Phase mit der Salzsäure (unter Ätherzusatz) kann man diejenige endlich farblos erhalten. Man kann auch von vornherein der ätherischen

Lösung des Chlorophyllans so viel Säure zusetzen, daß keine ätherische Phase, sondern eine homogene blaue Mischung entsteht. Dieselbe, mit einem Überschuß Äther ausgeschüttelt, gibt diesem kein Farbstoff zurück. Es folgt schon aus diesem, daß die Auflösung des Farbstoffes in der Salzsäure unter chemischer Zersetzung stattfindet.

Beim Aufschütteln der ätherischen Lösung des Chlorophyllans *a* mit Salzsäure 1,12 färbt sich die Säurephase nur sehr wenig. Die Säure 1,15 verhält sich den erstgenannten intermediär. Der Farbstoff wird davon zuerst reichlich aufgenommen, sie vermag aber bei wiederholter Operation die ätherische Phase nicht vollständig zu entfärben, und man bekommt endlich eine fast farblose Säurephase unter einer gefärbten Ätherschicht. Wird von vornherein die Salzsäure im Überschuß zugegossen, so bleibt doch das System inhomogen, indem ein Teil des Farbstoffes einige Zeit ungelöst suspendiert bleibt.

Aus der Salzsäurelösung des Chlorophyllans befreit man den Farbstoff vermöge weitgehender Verdünnung mit Wasser und Ausschütteln mittels Äthers. Die ätherische Lösung wird mit Wasser mehrmals ausgewaschen und mittels wasserfreiem Na_2SO_4 entwässert. Sie zeigt sich in ihrer Farbe sowie spektroskopisch mit der originellen Chlorophyllanlösung vollständig übereinstimmend. Der Farbstoff ist aber nicht mehr Chlorophyllan, wie es folgende Versuche zeigen. Aus der ätherischen Lösung wird der Farbstoff durch Salzsäure 1,12 fast quantitativ aufgenommen. Dieselbe Lösung, mit wässeriger Kalilauge und etwas Alkohol behandelt, zeigt nicht den oben erwähnten, für das Chlorophyllan charakteristischen Farbenumschlag. Mit Kalilauge umgeschwenkt, entfärbt sich die ätherische Lösung fast vollständig; es bilden sich sofort braune Flocken, welche sich zum Teil in der Kalilauge auflösen. Durch pulverförmigen $CaCO_3$ wird der größte Teil des Farbstoffs aus der ätherischen Lösung niedergerissen; es handelt sich hier nicht um eine Adsorptionsverbindung, sondern um Calciumsalzbildung. Durch essigsäurehaltenden Äther wird dieses Salz zersetzt und der Farbstoff löst sich auf.

Die oben genannte wässerige Schwefelsäure, mit der ätherischen Lösung des Chlorophyllans *a* aufgeschüttelt, nimmt den ganzen Farbstoff auf. Die blaue saure Lösung, mit Wasser gefällt und mit Äther ausgezogen, gibt demselben den Farbstoff ab,

welcher seinen Eigenschaften nach vollständig mit dem mittels Salzsäure erhaltenen Derivat (oder vielmehr Gemenge von Derivaten) übereinzustimmen scheint.

Wenden wir uns jetzt zum Chlorophyllan β. Wird seine ätherische Lösung mit Salzsäure 1,12 durchgeschüttelt, so erscheint die Säurephase in geringer Schicht ganz farblos. Schon mehr Farbstoff wird durch Salzsäure 1,15 aufgenommen und die Säure 1,19 liefert eine lebhaft grün gefärbte untere Phase. Der größte Teil des Farbstoffes bleibt aber, augenscheinlich unverändert, in der oberen Ätherphase. Wird von vornherein die ätherische Chlorophyllanlösung mit viel Salzsäure (1,19) versetzt, so erhält man ein homogenes grüngefärbtes System. Aus seiner Salzsäureverbindung vermöge Wasserfällung und Ausschüttelung mittels Äthers befreit, zeigt sich der Farbstoff zwar spektralanalytisch unverändert, in seinen chemischen Eigenschaften aber von dem Mutterfarbstoff stark abweichend. Seiner ätherischen Lösung wird er nämlich durch Salzsäure 1,12 fast vollständig entrissen. Beim Umschwenken der ätherischen Lösung mit Kalilauge erscheinen sofort rotbraune Flocken; die schwach tingiert zurückbleibende ätherische Flüssigkeit färbt sich unter Alkoholzusatz rosa. Von der oben genannten verdünnten Schwefelsäure wird Chlorophyllan β aus seiner ätherischen Lösung sofort quantitativ aufgenommen. Wie die blaue schwefelsaure Lösung des Chlorophyllans α, so auch die grüne des Chlorophyllans β enthält nachweislich nicht mehr den unveränderten Farbstoff, sondern ein Derivat oder ein Gemenge von Derivaten, welches aber spektroskopisch von der Muttersubstanz nicht differiert, insofern wenigstens, als die Auflösung in der Säure eine kurzdauernde war.

Schöne Reaktionen mit den Mineralsäuren liefern auch petrolätherische Lösungen der Chlorophyllane. Die Lösung des Chlorophyllans α, mit Salzsäure 1,19 oder 1,15 geschüttelt, färbt sich blau und trübt sich dabei. Beim Stehen sammelt sich an der Grenze der beiden Flüssigkeiten ein tiefblaugefärbter Stoff, welcher sich beim Umrühren in der Säurephase auflöst; die petrolätherische Phase erscheint farblos. Ganz analog verhält sich die petrolätherische Lösung des Chlorophyllans β. Nur ist hier die Färbung eine grüne, und der niedergeschlagene Farbstoff löst sich lange Zeit nicht in der Säurephase. Derselbe zeigt sich in seinen optischen und chemischen Eigenschaften mit dem von

starker Salzsäure aus ätherischer Lösung des Chlorophyllans β aufgenommenen Derivat übereinstimmend.

Chlorophyllan β, in Salzsäure 1,19 aufgelöst, zeigt selbst nach 10 Tagen nicht die mindeste spektroskopische Veränderung. Die Bedeutung dieser Tatsache wird sich bei Besprechung der weiter unten behandelten Fragen herausstellen.

Über Phylloxanthin uud Phyllocyanin.

Geschichtliches. Frémy hatte erkannt, daß die Alkalien dem Chlorophyll eine gelbe Färbung verleihen. Als er diesen vergilbten Chlorophyll („Phylloxanthein") mit Salzsäure und Äther schüttelte, so erhielt er eine blaue untere Säurephase und eine gelbe ätherische. Die entsprechenden färbenden Substanzen benannte er Phyllocyanin und Phylloxanthin und dachte sich zunächst dieselben als genuine Komponenten des Blattgrüns. Das ist die in der Literatur viel besprochene, vielfach wiederholte und abgeänderte Frémysche Reaktion. Zuerst hat Frémy selbst sowie seine Nachfolger der Einwirkung der Äther-Salzsäure nicht das durch Alkali veränderte Pigment, sondern das Chlorophyll selbst unterworfen. Das Resultat mußte aber insofern ein grundverschiedenes sein, als die ätherische Phase im ersten Falle rein gelb, nur zersetzte Xanthophyllfarbstoffe enthaltend, auftritt. Stokes, welcher über die Zusammensetzung des Chlorophylls treffende Notionen besaß, indem ihm das Vorhandensein zweier Chlorophylline bekannt war — er dachte sich zwar dieselben beide als grün —, scheint die Frémysche Reaktion richtig interpretiert zu haben. In seinen leider zu kurz gefaßten Mitteilungen behauptet er, daß Frémys Phyllocyanin (nach der zweiten Salzsäuremethode erhalten) durch das Umwandlungsprodukt des einen der grünen Stoffe gefärbt ist, während Phylloxanthin den einen gelben sowie den zersetzten zweiten grünen Farbstoff enthält. Wir werden weiter sehen, daß dies annähernd richtig ist.

Ich lasse beiseite die vielen Arbeiten, welche die spektroskopischen Eigenschaften der nach Frémy zu erhaltenden Phylloxanthin und Phyllocyanin behandelten, und komme gleich zu Edward Schuncks Untersuchungen, in welchen die Frémyschen Benennungen die geänderten, jetzt allgemein verbreiteten Definitionen erhielten. Schunck (I) leitet in eine alkoholische

Chlorophyllösung gasförmigen HCl, fängt den sich bildenden Niederschlag auf, wäscht ihn mit Wasser und Alkohol, löst in Äther auf und schüttelt die Lösung mit rauchender Salzsäure durch. Es bildet sich eine blaue saure Phase und eine gelbe ätherische. Durch Fällung mit Wasser der unteren Phase und Umkristallisieren mittels Essigsäure wird der als Phyllocyanin bezeichnete Körper erhalten. Was die gelbgrüne ätherische Schicht betrifft, so wird sie verdampft und der Rückstand in Chloroform gelöst. Nach Versetzen der Lösung mit dem mehrfachen Volumen Alkohol scheidet sich der größte Teil des Farbstoffes ab. Durch wiederholte Umkristallisierung desselben in Äther und Essigsäure erhält man endlich das als annähernd rein bezeichnete „Phylloxanthin". Phyllocyanin wurde in kristallisiertem Zustande erhalten; für Phylloxanthin wollte es nicht gelingen. Für die chemische Individualität der beiden Substanzen liegen keine besonderen Belege vor. Eine eingehende spektroskopische Untersuchung wurde nicht vorgenommen. In Schuncks zitierter Mitteilung finden sich Zeichnungen, welche die Spektren des Phyllocyanins und des Phylloxanthins in ätherischer Lösung für eine einzige mittlere Konzentration darstellen. In einem späteren, mit Marchlewski verfaßten Aufsatz findet man aber folgende entsprechende zahlenmäßige Daten (vgl. Marchlewski III):

Phylloxanthin	Phyllocyanin
I. 685—640	I. 695—642
II. 614—590	II. 620—600
III. 569—553	III. 572—559
IV. 542—513	IV. 542—525
Endabs. von 473 ab	V. 515—487
Intensitätsskala	Intensitätsskala
I > IV > II > III	I = IV > V > II > III

In seiner ersten Mitteilung (II, 311) glaubte Schunck seine Präparate als isomere Substanzen betrachten zu können und ließ — auf einer brieflichen Mitteilung Stokes fußend — die Frage offen, ob die genannten Stoffe nicht Abkömmlinge zweier verschiedener Substanzen sind. In seinen späteren, unter Mitwirkung Marchlewskis veröffentlichten Abhandlungen

(Schunck und Marchlewski I, 329, II, 106) behaupten aber die Autoren, daß Phylloxanthin und Phyllocyanin die Säurederivate einer und derselben chemischen Substanz, nämlich des vermeintlichen grünen „Chlorophylls“ seien. „Chlorophyll“ solle sich unter Säurewirkung zuerst in Phylloxanthin und dann in Phyllocyanin verwandeln. Das Chlorophyllan Hoppe-Seylers soll nichts anderes als ein Gemisch der beiden Substanzen sein (vgl. Marchlewski I).

Eigene Untersuchungen. Nehmen wir in Betracht die von mir gewonnenen Tatsachen betreffend die nächsten Säurederivate der Chlorophylline und ihr Verhalten gegen Mineralsäuren, so haben wir den Schlüssel zum vollständigen Verständnis der zweiten Frémyschen Reaktion. Unter Einfluß der Säure verwandeln sich die Chlorophylline fast augenblicklich in Chlorophyllane, von welchen das Chlorophyllan α sich sehr leicht unter weiterer Zersetzung in konzentrierter ($>$ 30%) Salzsäure blaufarbig auflöst. Das Chlorophyllan β aber, hauptsächlich unverändert, bleibt fast vollständig in der oberen ätherischen Phase, nebst einer gewissen Menge des Chlorophyllans α, sowie der veränderten gelben Farbstoffe. Diese letzten werden nämlich, wie ich gefunden habe, aus ihrer ätherischen Lösung durch konz. Salzsäure nicht aufgenommen, abgesehen von dem Xanthophyll β, welches sich zuerst mit blauer Farbe löst, um später entfärbt zu werden.

Durch wiederholte Durchschüttelung der ätherischen Phase mit erneuter konz. Salzsäure kann man diejenige mehr oder weniger vom Chlorophyllan α befreien und darin das Chlorophyllan β (abgesehen von den gelben Farbstoffen) dominierend machen.

Die von mir ausgeführten direkten Versuche bestätigen vollständig die gemachten Voraussetzungen. Es wurden aus zerriebenen Taxus- oder Pelargoniumblättern ätherische Auszüge hergestellt, dieselben filtriert und der Frémyschen Zersetzung mit konz. Salzsäure unterworfen. Salzsäure 1,12 gibt, wie zu erwarten war, eine kaum gefärbte Säurephase, während die Säuren 1,15 und besonders 1,19 die klassische blaue „Phyllocyanin“-Schicht liefern.

Ich gebe hier die Protokolle zweier Versuche mit ätherischen Chlorophyllösungen aus Pelargonium.

I. Ätherische Lösung mit Salzsäure 1,15 durchgeschüttelt, untere blaue Phase sofort abgelassen, mit Äther ausgewaschen, mit viel Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt, welches den ganzen Farbstoff aufnimmt. Die ätherische Lösung mehrmals mit Wasser durchgeschüttelt, um die Säure vollständig davon zu entfernen, und mittels wasserfreien Na_2SO_4 entwässert. Spektralanalytisch zeigt sie sich mit der entsprechenden Chlorophyllanlösung vollständig identisch; auch die schwachen, von den früheren Forschern nicht bemerkten Bänder II und VII[1]) sind zu sehen.

Die obere Phase wurde mehrmals mit erneuten Portionen Salzsäure durchgeschüttelt, und die sauren, zuerst blauen, die folgenden, grünen Fraktionen vereinigt, mit Äther behufs Entfernung der Xanthophyllbeimischungen ausgewaschen und der Farbstoff, nach Fällung mit Wasser, in Äther aufgenommen. Die ätherische Lösung ist gelbgrün und zeigt bei passender Konzentration das kombinierte Spektrum der Chlorophyllane α und β (doppeltes Band I, Streifendoublet auf 450 und 430—440).

Die nach allen diesen Operationen übrigbleibende ätherische Phase („gereinigtes Phylloxanthin" der Autoren) zeigt nun in der linken Spektrumhälfte die Absorptionsbänder des Chlorophyllans β; die rechte Hälfte ist durch gelbe Farbstoffe verdunkelt. Die Lösung wird auf dem Wasserbade stark eingeengt und mit Salzsäure 1,19 übergossen, welche sich schwach grün färbt. Nach einer Stunde wird die Säure abgegossen und der Rückstand in Äther aufgelöst, die ätherische Lösung mit Salzsäure 1,15 gebracht, die früher erhaltene Salzsäurelösung zugegossen und alles tüchtig durchgeschüttelt. Die grüne Säurephase wird abgelassen, mit Äther gewaschen und der Farbstoff vermöge Wasserzusatzes in Äther verjagt. Die ausgewaschene Lösung zeigt das reine Spektrum des Chlorophyllans β (alle Bänder vorhanden). Mit Kalilauge umgeschwenkt, entfärbt sie

---

[1]) Dies VII. Band scheint jedoch von C. A. Schunck (S. 389) schon photographisch konstatiert gewesen zu sein. Was das II. Band betrifft, so ist es wohl wegen seiner Schwäche den Vorgängern entgangen. Es ist nicht zu vergessen, daß die gewöhnlichen größeren Spektralapparate für solche Untersuchungen viel weniger geeignet sind als das von mir benutzte Zeißsche Spektralokular.

sich aber vollständig; der Farbstoff ist demnach kein Chlorophyllan mehr.

II. Die ätherische Chlorophyllösung wird neunmal mit Salzsäure 1,15 (unter entsprechendem Ätherzusatz) durchgeschüttelt. Die IX. Fraktion ist schwach gelbgrün, und der Farbstoff, in Äther übergeführt, zeigt in seinem Spektrum starkes Prädominieren der Chlorophyllan-β-Bänder. Die übrigbleibende Ätherphase („Phylloxanthin") wird mit wasserhaltiger (siehe oben) Schwefelsäure zusammen geschüttelt; die obere Phase kommt nunmehr reingelb aus, die untere grün. Letztere mit Äther ausgewaschen und nach Wasserzusatz der Farbstoff in Äther aufgenommen. Die ätherische, ausgewaschene und entwässerte Lösung zeigt das reine Spektrum des Chlorophyllans β. Der Farbstoff wird jedoch seiner ätherischen Lösung durch Salzsäure 1,12 oder Kalilauge vollständig entzogen.

Aus diesen Versuchen sehen wir, daß Schuncks Phyllocyanin als ein Säurederivat (oder Komplex) des Chlorophyllans α aufzufassen ist, während Phylloxanthin vielleicht Chlorophyllan β selbst ist, insoweit es nicht durch die Umkristallisationen aus heißem Eisessig verändert wird. Um diese Schlüsse zu erhärten, habe ich Versuche nach Schunck und Marchlewski angestellt. Arabis stricta-Blätter (150 g) wurden mit feinem Sand zerrieben und mit zirka 300 ccm 80proz. Alkohollösung am Rückflußkühler 1½ Stunden erhitzt. Die heiß filtrierte Lösung wurde am folgenden Tage von dem in derselben entstandenen Niederschlag abfiltriert und darin ein Strom trockenes HCl hineingeleitet. Die Flüssigkeit bräunte sich stark, ein körniger Niederschlag entstand aber nur, nachdem ich etwas Wasser zufügte[1]). Der Niederschlag wurde auf dem Filter mit kaltem 80proz. Alkohol mehrmals abgewaschen und dann in Äther aufgenommen. Die Lösung zeigte das kombinierte Spektrum der Chlorophyllane α und β. Die mit Salzsäure 1,19 vorgenommene Frémysche Entmischung lieferte eine blaugrüne saure Phase und eine gelbgrüne Ätherschicht, welche das Spektrum des Chlorophyllans β aufwies, nebst eines

[1]) Schunck und Marchlewski geben nicht an, in welchem quantitativen Verhältnis sie das für Darstellung ihrer Lösungen verwendete Gras genommen haben, so daß man sich keine Vorstellung über den finalen Alkoholreichtum ihrer Extrakte machen kann. Augenscheinlich waren dieselben alkoholärmer als das meinige.

Bandes 470—490, welches von gelbem Farbstoffe herrührte[1]). Die ätherische Lösung, mit Wasser ausgewaschen und mit Kalilauge durchgeschüttelt, gibt nichts dieser letzteren ab. Unter Alkoholzusatz erscheint die für das Chlorophyllan *β* charakteristische ephemere rote Färbung. Was die blaue „Phyllocyanin"-Schicht der oben genannten Entmischung betrifft, so wurde ihr Farbstoff nach Wasserfällung in Äther übergeführt und die Lösung mit Wasser ausgewaschen. Sie zeigte das fast reine Spektrum des Chlorophyllans *α* (etwas Chlorophyllan *β* beigemischt). Mit Kalilauge umgeschwenkt, entfärbte sie sich teilweise unter Bildung von braunen Flocken. Der Farbstoff ist demgemäß in seiner Hauptmasse zersetztes Chlorophyllan *α*. Was daraus beim Umkristallisieren aus heißer Essigsäure (Schuncks Phyllocyanindarstellung) entsteht, bleibt noch zu untersuchen.

Über die angebliche Umwandelbarkeit des „Phylloxanthins" in „Phyllocyanin".

Bekanntlich gilt es nach Schuncks und Marchlewskis Untersuchungen, daß Phylloxanthin sich in Phyllocyanin überführen läßt, nämlich vermöge Auflösung in konz. Salzsäure, und daß Phyllocyanin nur das letzte Stadium der unter Phylloxanthinbildung eingeleiteten Zersetzung des „Chlorophylls" ist.

Diese Theorie ist, wie aus meinen oben mitgeteilten Feststellungen, sowie aus unten zu beschreibenden Versuchen folgt, nicht zutreffend. Es bleibt mir hier näher zu erläutern, wie die Täuschung entstand. Es ist bemerkenswert, daß Schunck in seinen ersten Untersuchungen die Tatsachen richtiger interpretiert hatte. Er hatte (II, 309) beobachtet, daß Phylloxanthin sich allmählich in konz. Salzsäure auflöst (die Färbung ist dabei mehr grün als die des Phyllocyanins), betonte aber, auf spektroskopischen Beobachtungen fußend, daß dabei eine Umwandlung des Phylloxanthins in Phyllocyanin nicht stattfindet. In seinen späteren, unter Marchlewskis Mitarbeitung veröffentlichten Mitteilungen scheint aber der verdiente englische Forscher seine

[1]) Dieser gelbe Farbstoff ließ sich vermöge Durchschüttelung mit wasserhaltiger H_2SO_4 abtrennen, welche letztere das Chlorophyllan aufnahm und die ätherische Phase reingelb überließ.

ersten Befunde vergessen zu haben. Zwar betrachteten die beiden Autoren zuerst die Umwandlung des Phylloxanthins in Phyllocyanin nur als eine wahrscheinliche Möglichkeit (I, 335), in einem späteren Aufsatze (II, 101) behaupten sie aber, die Sache bewiesen zu haben.

Es sei hier der Gang der entsprechenden Versuche nach Marchlewskis Darstellung in seiner „Chemie des Chlorophylls" (S. 38) wiedergegeben. „Die Versuche wurden mit Phyllocyanin — freiem Phylloxanthin, dessen Lösung nur vier Absorptionsstreifen zeigte und auch sonst sämtliche Eigenschaften einer normalen Phylloxanthinlösung besaß, vorgenommen. Das Phylloxanthin wurde in konzentrierter Salzsäure suspendiert, etwas Äther zugesetzt und den Inhalt während mehreren Stunden unter häufigem Durchschütteln stehen gelassen. Die Lösung färbt sich allmählich blaugrün. Nun wurde die Lösung tüchtig mit Äther, behufs Entfernung des unangegriffenen Phylloxanthins, durchgeschüttelt, die salzsaure Lösung in Wasser gegossen und die Flüssigkeit mit neuen Mengen Äther extrahiert. Letztere nahm nun das gebildete Phyllocyanin auf. Die ätherische Lösung erschien grün im Gegensatze zu der braunen, mit einem Stich ins Rote, Lösung des Phylloxanthins und besaß genau dasselbe Spektrum wie direkt dargestellte Phyllocyaninlösungen."

Wäre in diesen Versuchen das ganze „Phylloxanthin" in „Phyllocyanin" übergeführt worden, so könnte man dieselben als beweiskräftig bezeichnen. Es ist aber „unangegriffenes Phylloxanthin" geblieben, das heißt nur ein Teil des Farbstoffes hatte sich in der Salzsäure aufgelöst. Ich behaupte, daß dieser Farbstoff (oder exakter seine Muttersubstanz Chlorophyllan α) eben präformiert in der Phylloxanthinlösung (Chlorophyllan β) als Beimischung lag. Zwar ließ die spektroskopische Betrachtung dieser Phylloxanthinlösung nichts davon erkennen, es kann aber nur bezeugen, daß der verunreinigende Farbstoff in relativ kleiner Menge vorhanden war.

Die Meinung, Phylloxanthin sei die Vorstufe der Phyllocyaninbildung bei Säurewirkung auf „Chlorophyll", hat Marchlewski (II, S. 38) durch Tatsachen aus der Literatur zu bekräftigen versucht. Er zitiert Askenasy (Bot. Zeit. 1867, 229), nach welchem, sagt er, bei der Bildung des sogenannten modifizierten Chlorophylls das Anfangsstadium der Reaktion durch ein

Spektrum charakterisiert wird, welches mit dem des nach Frémys Verfahren dargestellten Phylloxanthins übereinstimmt, während das Endstadium durch Absorptionsbänder charakterisiert ist, welche genau mit denen des Phyllocyanins zusammenfallen.

Dies Zitat ist aber unrichtig. Askenasy bespricht die Einwirkung der Salzsäure oder Schwefelsäure auf die alkoholische Chlorophyllösung und sagt, daß bei geringem Zusatz eine gelbliche Farbe auftritt, während bei größerem Zusatz die bekannte blaugrüne Farbe erscheint. Die Lösung zeigt dann das starke Absorptionsband im Rot, die anderer nur schwach, am meisten geschwächt ist die Absorption im Blau.

Diese Farbenveränderungen erklären sich folgendermaßen: zuerst entstehen die Chlorophyllane, was mit einer Verdunkelung der blauen und grünen Strahlen und einer Aufhellung der gelben verbunden ist; gibt man aber mehr Säure zu, so bildet sich die blaue Verbindung des zersetzten Chlorophyllans *a* mit der Säure; zugleich werden die gelben Farbstoffe zerstört, was eine Aufhellung der blauen Strahlen bewirkt. Es haben dies schon ganz richtig Russell und Lapraik eingesehen, auf welche aber Marchlewski ebenfalls sich zu stützen können glaubt. Diese Forscher sagen nämlich, daß Salzsäure den blau absorbierenden Farbstoff der ätherischen Chlorophyllösung zerstört und daher das Absorptionsband 499—516 $\Gamma\Gamma$ hervortreten läßt, welches wahrscheinlich aber vorher (in der durch Säure halbveränderten Lösung) existierte, aber maskiert war. Wir sehen somit, daß Marchlewskis bibliographischer Beweis seiner Meinung auf unexakter Kenntnisnahme und Verwendung der Tatsachen beruht. Die exakte spektralanalytische Verfolgung der Säurewirkung zeigt aber im Gegenteil, daß von einem sukzessiven Auftreten des Phylloxanthin- und des Phyllocyaninspektrums keine Rede sein kann.

Ich benutzte alkoholisch-ätherische Chlorophyllösungen aus Pelargonium, Viburnum Tinus und Ficus repens (mit Schmirgel zerriebene Blätter). Die Lösungen wurden in solchen Verdünnungen angewendet, daß sie das Hauptabsorptionsband in seiner charakteristischen Grenzlage aufwiesen. Nach Zusatz von Essigsäure oder auch von Salzsäure spielten sich folgende Spektralumlagerungen ab. Band I im Rot, aus zwei ungleich dunklen Hälften zusammengesetzt (Bänder der Chlorophylline *a*

und β), erscheint doppelt. B_α (660—670) > B_β (638—648) und das kaum angehauchte Band IV (auf 535) tritt stark hervor (531—542). Gleichzeitig erscheint ein dem IV. Band gleichtemperierter Schatten von 510 ab, welcher von der bei 490 beginnenden „Endabsorption" schlecht abgegrenzt ist. Vor der Säurewirkung begann diese „Endabsorption" auch bei 490. Diese Beobachtung zeigt, daß die Bildung der für das Chlorophyllan α charakteristischen Bänder V und VI (siehe weit oben) gleichzeitig und sofort nach Säurezusatz beginnt. Außerdem ist zu sehen, daß Chlorophyllin β sich langsamer als sein Geselle zersetzt, da sein erstes Band (638—648) zuerst erhalten bleibt und sich von dem nach links rückenden I. Band des Chlorophyllans α scharf abtrennt. Diese größere Resistenz des Chlorophyllins β läßt sich auch durch Beobachtung (in passend verdünnter Lösung) seines Bandes VI ermitteln. Nach einiger Zeit rücken aber auch die Chlorophyllan β-Bänder in die für die entsprechenden Chlorophyllanbänder charakteristische Lage.

Nomenklaturfragen.

Es wird niemand in Abrede stellen, daß eine systematische rationelle Nomenklatur für die normale Entwickelung der Wissenschaft eine wichtige Angelegenheit ist. In dieser Hinsicht läßt aber die Nomenklatur der Chlorophyllfarbstoffe viel zu wünschen übrig. Kraus und mehrere andere Forscher haben schon hervorgehoben, daß es ganz unstatthaft ist, unter Chlorophyll etwas anderes zu verstehen, als das gesamte grüne Pigment der Blätter. Das Wort hat ja gleich am Anfange diese rationelle Definition erhalten und bedeutet auch jetzt dasselbe in der Physiologie und Biologie. Will man weiterer Konfusion nicht huldigen, so ist es klar, daß keinem Teilfarbstoff des Chlorophylls diese letzte Bezeichnung zu erteilen ist, wenn auch unter diesen Farbstoffen ein wirklich grüner vorkommt (worüber wir nur jetzt ins klare gekommen sind). Ich habe schon oben (S. 9, Anmerkung) die Angemessenheit des Namens Chlorophyllin besprochen. Ich füge hinzu, daß die von Marchlewski für das Chlorophyllin β proponierte Bezeichnung Allochlorophyll schon deshalb nicht empfehlenswert ist, weil dann mehrere Allochlorophylle zu unterscheiden wären. Braunalgen und Diatomeen (Tswett IV) enthalten ja anstatt des Chlorophyllins β der grünen Pflanzen ein

besonderes Chlorophyllin γ (Sorbys Chlorofucin), und die streng etiolierten Phanerogamenkeimlinge beherbergen einen 4. Farbstoff derselben Familie, das Chlorophyllin δ (Protophyllin, Protochlorophyll der Autoren). Die Nomenklatur der gelben Chlorophyllfarbstoffe lasse ich hier beiseite und komme auf die Derivate der Chlorophylline. Die für die nächsten Säurederivate von mir im Anschluß an Hoppe-Seyler proponierten Bezeichnungen Chlorophyllane brauchen wohl keiner weiteren Begründung. Was aber die Termini Phylloxanthin und Phyllocyanin betrifft, so wäre es infolge meiner Untersuchungen, glaube ich, wohl empfehlenswert, dieselbe in Zukunft nur in ihrer ersten historischen Bedeutung zu benutzen, für die in neuerer Zeit aber darunter begriffenen Stoffe oder Stoffgemische neue Bezeichnungen einzuführen. „Phyllocyanin" ist nämlich kein blauer Farbstoff, „Phylloxanthin" kein gelber, und wenn die salzsaure „Lösung" des ersteren blau ist, so ist die entsprechende „Lösung" des zweiten, wie wir gesehen haben, grün. Über die mögliche Identität (pro parte) Schuncks Phylloxanthins mit meinem Chlorophyllan β vgl. man die oben gegebenen Erörterungen.

Über Willstätters Untersuchungen.

Am Ende des verflossenen Jahres ist eine sehr interessante Abhandlung Willstätters und Miegs erschienen, in welcher die Autoren eine neue Methode zur Trennung der „Chlorophyllderivate" einführen. Es wurde nämlich die verschiedene Acidität oder Basicität der Derivate zu deren Entmischung benutzt und z. B. ätherische Lösungen derselben mit verschieden konzentrierter Salzsäure ausgeschüttelt. An der Hand dieser Methode wurden zwei Reihen von Derivaten untersucht. Einerseits die Produkte der Einwirkung von Alkalien auf chlorophyllanartige Extrakte und ihre durch Säure gebildeten Abkömmlinge (Phytochlorine). Zweitens die aus „Alkachlorophyll" bei Behandlung mit alkoholischer HCl-Lösung erhaltenen Substanzen (Phytorhodine). Diese zahlreichen Derivate stehen zum Teil in genetischem Zusammenhang. Sie sind kristallisiert erhalten worden und die Werte der Aschenanalysen liegen nahe beisammen. Leider fehlen vorläufig spektralanalytische Untersuchungen dieser Phytochlorine und Phytorrhodine, und wir können uns daher keine Vorstellung über den Zusammenhang dieser Abbauprodukte mit

den Muttersubstanzen, den Chlorophyllinen *α* und *β* machen. Die Willstättersche Fraktionierungsmethode wird gewiß große Dienste leisten, es ist aber dabei nicht zu vergessen, daß die Salzsäure nicht nur als Basicität bindend in elektiver Weise wirkt, sondern auf die untersuchten Stoffe selbst zersetzend einwirkt, ihre basischen und sauren Eigenschaften verändernd. Darüber liegen prägnante Belege in den von mir mitgeteilten Tatsachen über das Verhalten der Chlorophyllane gegen Mineralsäuren. Im allgemeinen muß man beim Studium der labilen Substanzen der Biochemie womöglich immer zu physikalischen Trennungsmethoden greifen. Meine chromatographische Adsorptionsmethode, mehr als jede andere, ist imstande, den Forscher über die Zusammensetzung eines Farbstoffgemisches zu unterrichten und ihm die Trennung der Teilfarbstoffe zu ermöglichen. Diese Methode wird sich auch für Willstättersche Derivate anwenden lassen, insofern dieselben in Petroläther, C_6H_6 oder CS_2 löslich sind.

Physikalische Methoden verwendete auch Willstätter (S. 50—51) zur Entmischung des „Chlorophylls“, nämlich die Kraussche sowie eine neue, vom Verfasser als Reinigung mittels der kolloidalen Lösung bezeichnete Methode.

Betreffend die Kraussche Methode muß ich betonen, daß dieselbe nicht ohne weiteres dazu dienen kann, das „Chlorophyll“ (Chlorophyllin *α* und *β*) vom Carotin zu trennen, wie es Willstätter (S. 68) glaubt. Im Gegenteil muß beim Ausschütteln der petrolätherischen Chlorophyllösung mit Alkohol der relative Gehalt derselben am Carotin immer größer werden. Carotin bleibt nämlich in der Krausschen Entmischung vollständig in der oberen Schicht; Carotin und Kraus' Xanthophyll (vornehmlich ein Gemisch von gelben Farbstoffen) haben nichts miteinander zu tun. Es ist dies schon aus der von Willstätter zitierten Abhandlung Monteverdes zu entnehmen. Über die Willstättersche Methode der kolloidalen Lösung werde ich an anderem Orte berichten; ebensowenig wie die Kraussche kann sie nur eine partielle Abtrennung des Carotins bewirken.

Hauptergebnisse.

Das Blattgrün oder Chlorophyll ist nicht, wie allgemein angenommen, ein mit gelben Farbstoffen gemischtes grünes Pigment („Chlorophyll“ sensu stricto). Die vermeintliche

grüne Komponente des Blattgrüns ist nämlich ein Gemisch zweier Farbstoffe (Chlorophylline α und β), von welchen das reichlicher vorhandene (α) als blau zu bezeichnen ist. Jedes dieser Chlorophylline liefert unter Einwirkung der schwachen Säuren ein besonderes Derivat (Chlorophyllane α und β). Hoppe-Seylers Chlorophyllan ist als das entsprechende Gemisch zu betrachten. Ebenso wie die Chlorophylline, so sind auch die Chlorophyllane durch scharf charakteristische vielbändige Absorptionsspektren gekennzeichnet. Chlorophyllane besitzen keine saure Eigenschaften. Ihre ätherische Lösungen mit Alkohol und KOH versetzt, geben schöne charakteristische Farbenumschläge. Chlorophyllane (oder Chlorophylline) lösen sich unter Zersetzung in konzentrierten Mineralsäuren (Chlorophyllan α am leichtesten), wobei die Lösungen annähernd die Farbe annehmen, welche der ätherischen Lösung des entsprechenden Stammchlorophyllins eigen ist. E. Schuncks Phyllocyanin ist das Produkt der Salzsäureeinwirkung auf Chlorophyllan α, während Phylloxanthin aus Chlorophyllan β stammt (vielleicht mit demselben identisch).

Phylloxanthin (oder Chlorophyllan β) ist unter bisher bekannten Bedingungen nicht in Phyllocyanin (zersetztes Chlorophyllan α) umwandelbar.

Zitierte Literatur.

Frémy, E., Compt. rend. **50**, 405, 1860.

Hartley, N., Journ. Chem. Soc. **59**, 106, 1891.

Hoppe-Seyler, F., Zeitschr. f. physiol. Chemie **3**, 339, 1879.

Macchiati, L., Malpighia **1** (1889), Fasc. X—XI.

Marchlewski, L., I. Journ. f. prakt. Chemie **61**, 47, 1900; II. Chemie des Chlorophylls (1889); III. Roskoe-Schorlemmers ausf. Lehr. d. Chemie **8**, 854, 1901.

Marchlewski, L. u. Schunck, C. A., Journ. f. prakt. Chemie **62**, 247, 1900.

Meyer, A., Das Chlorophyllkorn. Leipzig 1883.

Monteverde, N., Acta Horti Petropol. **13**, 123, 1893.

Russel a. Lapraik, Journ. Chem. Soc. 1882.

Nadson, G., Scripta botan. Univ. Petropol. **4**, 170, 1893.

Sachsse, R., Chemie und Physiologie der Farbstoffe (1877).

Schunck, C. A., Proc. Roy. Soc. Lond. **63**, 389, 1898.

Schunck, E., I. Proc. Roy. Soc. Lond. **39**, 348, 1885; II. Ibid. **50**, 302, 1891.

Schunck, E. u. Marchlewski, L., I. Lieb. Ann. **278**, 331, 1894; II. Ibid. **284**, 81, 1895.

Schütt, F., I. Ber. d. deutsch. botan. Ges. **5**, 259, 1887; II. Ibid. **6**, 36, 1888.
Sorby, H., Proc. Roy. Soc. Lond. **21**, **442**, 1873.
Stokes, G., Philosoph. Magaz. **28**, 63, 1864.
Timiriazef, L., Analyse spectrale de la chlorophylle. Petersbourg 1871.
Tschirch, A., Unters. ü. d. Chlorophyll. Landw. Jahrb. **13**, 399, 1884.
Tswett, M., I. Compt. rend. **131**, 842, 1900; II. Ibid. **132**, 149, 1901; III. Trav. Soc. d. Natur. Kazan **35**, 1901; IV. Ber. d. deutsch. botan. Ges. **24**, 235, 1906; V. Ibid. 316; VI. Ibid. 384; VII. Ibid. **25**, 71, 1907; VIII. Ibid. 137.
Willstätter, R., Lieb. Ann. **350**, 48, 1906.
Willstätter, R. u. Mieg, Lieb. Ann. **350**, 1, 1906.

Nachtrag.

Die vorstehende Abhandlung war schon abgefaßt, als ich einen neuen Aufsatz Marchlewskis über die Chemie des Chlorophylls (diese Zeitschr. **3**, 302, 1907) zur Aufsicht bekam. Derselbe ist sehr interessant, weil die darin enthaltenen Tatsachen eine indirekte Bestätigung der von mir gewonnenen Resultate liefern, obgleich der Autor darin keinen Widerspruch mit seinen Ansichten erblickt.

Marchlewski und Koźniewski wollten die Frage prüfen, ob reines „Chlorophyll" (Chlorophyllin α[1])) wirklich unter Einwirkung der Salzsäure in Phylloxanthin und Phyllocyanin zerfällt. Behufs Darstellung des „reinen Chlorophylls" wurde eine alkoholische Chlorophyllösung aus Ficus repens (Alkoholkonz. 82%) mit Schwefelkohlenstoff durchgeschüttelt, und die CS_2-Phase viermal mit dem gleichen, jedesmal erneuten Volumen Alkohols ausgeschüttelt, wobei nach der Meinung der Autoren in CS_2 nur das reine „Chlorophyll", frei von Lipochromen und Allochlorophyll (Chlorophyllin β), verbleibt. Die CS_2-Lösung wurde nun abgedampft, der Rückstand in Äther gelöst und der Fremyschen Reaktion unterworfen. Es bildeten sich die klassischen Schichten des Phylloxanthins und Phyllocyanins mit ihren charakteristischen

[1]) In einer Fußnote erlaubt sich Marchlewski meine Angaben über die Spektren der Chlorophylline ohne weiteres als vollkommen falsch zu erklären. Zwar stimmen diese Angaben mit den Ansichten Marchlewskis nicht überein. Es beweist aber nun, daß diese letzten falsch sind. Meine Ergebnisse ruhen auf vielseitiger, breiter Basis, und hoffentlich wird Herr Marchlewski nach ernstem Studium und Prüfung meiner seitdem veröffentlichten ausführlichen Abhandlung dies selbst erkennen.

Eigenschaften. „Es schien uns jedoch, als ob die Menge des gebildeten Phylloxanthins geringer wäre als bei Anwendung der Rohchlorophyllösung" (S. 305). In dem Versuche erblicken die Autoren den endgültigen Beweis, daß die genannten Derivate aus einer und derselben Substanz stammen. Es läßt sich aber zeigen, und zwar mit geometrischer Evidenz, daß dies ein Trugschluß ist. Zuerst ist die Darstellungsweise des „reinen" Chlorophyllins eine a priori verfehlte. Schon aus Sorbys „Chromatology" (S. 458) hätten die Autoren entnehmen können, daß in Chlorophyllösungen ein Farbstoff vorkommt, nämlich das Carotin (Sorby nannte es „orange Xanthophyll"), welches in CS_2 viel löslicher ist als in Alkohol und daher in der Stokes-Sorbyschen Entmischung vollständig in der CS_2-Phase verbleibt. Es kann daher der von Marchlewski und Koźniewski eingeschlagene Weg unmöglich zur Abtrennung des Chlorophyllins α von den Lipochromen dienen. Was aber die Entfernung des Chlorophyllins β betrifft, so kann sie nach dem gegebenen Verfahren nur eine relative werden. Der Farbstoff ist in CS_2 löslicher als in 82proz. Alkohol. Die von den Autoren als Kontrolle vorgenommene spektroskopische Prüfung des in CS_2 übergeführten Farbstoffinhaltes der 4. alkoholischen Waschfraktion, wobei das rote Band des Chlorophyllins β fehlte, kann nur bezeugen, daß dieser letzte Farbstoff so weit im System quantitativ zurücktrat, daß sein charakteristisches Band im Rot neben dem Bande des Chlorophyllins α in angewandter Konzentration nicht zum Vorschein kommen konnte. Wir sind also streng berechtigt zu vermuten, daß vermeintliches „reines Chlorophyll" nebst dem gesamten Carotin auch etwas Chlorophyllin β enthielt. Selbstverständlich mußte dann die mit dem Farbstoff vorgenommene Frémysche Reaktion neben Phyllocyanin auch Phylloxanthin liefern, und zwar, wie dies die Autoren bemerkt haben, in geringerer Menge als für gewöhnlich.

Mit dem nach geschildertem Verfahren dargestellten „Phylloxanthin" haben nun die Autoren einen Transmutationsversuch in Phyllocyanin angestellt. Er ist gescheitert, obgleich der Farbstoff drei Tage lang der Einwirkung konzentrierter Salzsäure unterlag. Auf dieses Resultat, welches mit dem der früheren entsprechenden Versuche in unbegreiflichem Widerspruch steht, scheinen die Autoren nicht besonders Gewicht zu legen und

hoffen, daß vielleicht unter Erwärmen eine Umwandlung geschehen wird, welche bei gewöhnlicher Temperatur wohl früher gelang, jetzt aber nicht zustande kommt. Das Rätsel ist aber auf Grund der von mir nachgewiesenen Autonomie der beiden Derivate nicht schwer zu entziffern.

In früheren Experimenten war nur ein Teil des verarbeiteten „Phylloxanthins" in „Phyllocyanin" angeblich umgewandelt und abgetrennt, und ich habe die Meinung begründet (S. 24), daß dieser „umgewandelte" Farbstoff eben als präformiertes „Phyllocyanin" vorlag. In den neuen Versuchen wurde aber der gesamte mit Salzsäure behandelte Farbstoff wieder in ätherische Lösung gebracht. Folglich, da die relativen Mengen der beiden Chlorophyllinderivate unverändert blieben, konnte das durch das überwiegende Phylloxanthin (Chlorophyllan β) bestimmte Spektrum des Gemisches keine Änderung erfahren. Noch einfacher erklärt sich die Sache, wenn wir annehmen — freilich ohne zureichenden Grund —, daß das von Marchlewski und Koźniewski jetzt verwendete „Phylloxanthin" wirklich ganz rein war.

Über die Analyse der Spaltungsprodukte des Milz-Nucleoproteids.

Von

P. A. Levene und J. A. Mandel.

(Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, N.-Y., und aus New-York University and Bellevue Medical College, N.-Y.)

(Eingegangen am 21. Juni 1907.)

Die Kenntnis der chemischen Natur der Chromatine ist in den jüngsten Jahren durch die Arbeiten mehrerer Forscher bedeutend gefördert worden. Die meisten Arbeiter haben ihr Interesse der Zusammensetzung der Nucleinsäuren gewidmet. Diese Untersuchungen haben aber bisher nur wenige Unterschiede in der Zusammensetzung der Säuren verschiedener Herkunft zutage gebracht. Anderseits haben die Arbeiten von Kossel und seiner Mitarbeiter sehr eklatante Differenzen in den Spaltungsprodukten der Protamine gezeigt. Man dürfte deswegen erwarten, auch bei der Analyse der komplizierteren Nucleoproteide ausgesprochene Unterschiede in der Zusammensetzung des Proteinanteiles zu finden.

Es liegt nur die Analyse eines hierhingehörenden Körpers vor, nämlich die Mitteilung von Wohlgemuth[1]) über die Zusammensetzung des Lebernucleoproteids, in welcher eine Reihe sonst im Proteinmolekül unbekannte Körper beschrieben wurde.

Wir haben deswegen beschlossen, eine systematische Untersuchung der Nucleoproteide verschiedener Herkunft vorzunehmen. In der vorliegenden Mitteilung wird über die Resultate der Analyse des Milznucleoproteids berichtet. Die Substanz wurde nach

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **37**, 475, 1903; **42**, 519, 1904; **44**, 530, 1905. — Ber. d. deutsch. chem. Ges. **37**, 4362.

einem Verfahren, welches schon in einer früheren Arbeit angegeben ist, dargestellt und einmal umgefällt.

Die einzelnen Substanzen wurden auf folgende Weise isoliert:

Aminosäuren.

Glutaminsäure durch Kristallisieren des salzsauren Salzes; Tyrosin durch direktes Kristallisieren. Reines Leucin erhielt man nach dem Verfahren von einem von uns durch Fällen der in Wasser wenig löslichen Aminosäuren mittels Bleizucker und Ammoniak. Aminovaleriansäure wurde erhalten durch Kristallisation der Fraktion aus 75% Essigsäure, die im Filtrate von Blei- und Ammoniakfällung nachgeblieben war. Phenylalanin wurde nur qualitativ nachgewiesen. α-Prolin konnte nicht aufgefunden werden. Asparaginsäure wurde aus der Fraktion der leichtlöslichen Aminosäure mittels Bleizucker und einem großen Überschuß von Ammoniak erhalten. Alanin und Glykokoll wurden mittels konzentrierter Phosphorwolframsäureösung und die zweite Säure mittels Picrinsäure gefällt.

Basen.

Alle Basen mit Ausnahme des Thymins wurden mit einer 110-prozentigen Lösung von Phosphorwolframsäure gefällt. In dieser Fraktion wurden die Purin- und Pyrimidin- von den Hexonbasen mittels Mercuriacetatlösung getrennt. Das Thymin wurde aus der Aminosäuren-Fraktion mittels Mercuriacetat gefällt.

Am auffallendsten bei dem Ergebnis der Analyse war der große Gehalt an Glutaminsäure und die Unmöglichkeit, α-Prolin zu gewinnen. Auch Oxyprolin konnte nicht isoliert werden. Die Einzelheiten der Analyse folgen.

Die Darstellung des Nucleoproteids wurde, wie schon bemerkt ist, auf dem früher beschriebenen Wege ausgeführt. Das Präparat wurde einmal umgefällt. 400 g trockne und aschenfrei berechnete Substanz kamen zur Anwendung. Sie wurden in 500 ccm Wasser und 1 l Salzsäure vom spez. Gew. 1,20 aufgenommen und 15 Stunden im Ölbade bei 150° C erhitzt. Die Lösung wurde dann bei vermindertem Druck bis zu 700 ccm eingedampft, in der Kälte mit Salzsäure gesättigt und im Refrigerator bei —1° C mehrere Tage

stehen gelassen. Das auskristallisierte Hydrochlorat der Glutaminsäure wurde auf der Saugpumpe abfiltriert, dann in Wasser gelöst, mit Bariumcarbonat alkalisch gemacht und erhitzt, um das Ammoniak zu verjagen. Das Barium wurde dann quantitativ durch Schwefelsäure entfernt, die Flüssigkeit auf ein kleines Volumen eingedampft und das Hydrochlorat der Glutaminsäure wieder kristallisieren gelassen. Das Salz wurde auf der Saugpumpe abfiltriert, mit Alkohol, welcher in der Kälte mit Salzsäure gesättigt war, gewaschen und bis zum konstanten Gewicht getrocknet. Die Ausbeute betrug 130,0 g.

Die Mutterlauge von dieser Fällung wurde mit der Hauptfraktion vereinigt.

Für die Analyse war ein Teil des Hydrochlorates in die freie Säure übergeführt und diese im Toluolbad getrocknet.

0,2173 g der Substanz gaben 0,3236 CO_2 und 0,1180 g H_2O.

Für $C_5H_9NO_4$

Berechnet	Gefunden
C = 40,79	= 40,61
H = 6,16	= 6,07

Der Hauptteil der Lösung wurde dann durch wiederholtes Abdampfen bei vermindertem Druck vom Überschusse der Salzsäure befreit und auf etwa 8 l verdünnt, so daß sie etwa einer 5prozentigen Lösung des angewandten Materials entsprach. Diese Lösung wurde dann mit einer 10prozentigen Lösung von Phosphorwolframsäure so lange behandelt, bis sich noch ein Niederschlag bildete. Der Niederschlag, der hauptsächlich Basen enthielt, wurde abfiltriert und die Mutterlauge in üblicher Weise von Phosphorwolframsäure befreit. Die so erhaltene Lösung wurde bis zur beginnenden Kristallisation auf dem Wasserbade eingedampft und erkalten gelassen. Diese Kristallisation bestand hauptsächlich aus Tyrosin und betrug 6,0 g = Fraktion I.

Die Substanz wurde in heißem, verdünntem Ammoniakwasser aufgelöst, die Lösung mit Essigsäure neutralisiert und kristallisieren gelassen. Im Toluolbad getrocknet, wies die Substanz die folgende Zusammensetzung auf:

0,2358 g der Substanz gaben bei der Verbrennung 0,5160 g CO_2 und 0,1286 g H_2O.

Für $C_9H_{11}NO_3$

Berechnet	Gefunden
C = 59,63	= 59,68
H = 6,12	= 6,10

Das Filtrat vom Tyrosin wurde weiter eingedampft und die schwerlösliche Aminosäure auskristallisieren gelassen. Diese Fraktion bestand aus Leucin, Aminovaleriansäure und sehr wenig Phenylalanin, = Fraktion II, und betrug 19,0 g.

Diese Fraktion wurde mit heißem Alkohol ausgekocht, um das möglicherweise anhaftende α-Prolin zu entfernen. Aus dem in heißem absoluten Alkohol unlöslichen Rest wurde dann wieder der in Wasser schwerer lösliche Teil erhalten, in der Hoffnung, reines Leucin zu erzielen. Die Substanz enthielt aber 53,61% C und 9,70% H, war also scheinbar eine Mischung von Aminovaleriansäure und Leucin. Um diese zu trennen, wurde wieder das Verfahren mit Bleizucker und Ammoniak gebraucht. Es wurden nämlich Bleiacetat und Ammoniak zu der konzentrierten Lösung der Aminosäuren zugegeben, solange sich ein Niederschlag bildete. Die Mischung wurde dann erhitzt und heiß filtriert, der Niederschlag in Essigsäure aufgelöst, mit Schwefelwasserstoff vom Blei befreit und die bleifreie Lösung eingedampft, wobei reines Leucin kristallisierte.

0,1515 g der Substanz gaben bei der Verbrennung 0,3035 CO_2 und 0,1376 H_2O.

Für $C_6H_{13}NO_2$

Berechnet	Gefunden
C = 54,96	54,70%
H = 9,92	10,09%

1,0 g der Substanz wurde dann mit Bariumhydrat auf übliche Weise im Autoklaven racemisiert und nach Neuberg und Manasse[1]) in α-Naphthylhydantoin übergeführt. Die Substanz hatte den Schmelzpunkt = 169° C.

Das Filtrat von Leucinblei wurde auch von Blei befreit und zu beginnender Kristallisation eingedampft. Es wurde dann stehen gelassen, die erste Fällung wurde nicht untersucht, aber

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **38**, 2359, 1905.

das Filtrat davon wurde zur Trockne eingedampft und aus 80prozentiger Essigsäure umkristallisiert. Die auf diese Weise erhaltene Substanz besaß ohne weiteres Umkristallisieren die Zusammensetzung der Aminovaleriansäure.

0,1515 g im Toluolbad getrocknete Substanz gaben 0,2856 g CO_2 und 0,1278 g H_2O.

Für $C_5H_{11}NO_2$

Berechnet	Gefunden
C = 51,22%	51,41%
H = 9,48%	9,39%

Alle Reste und Filtrate von dieser Fraktion II wurden vereinigt und zur Gewinnung des Phenylalanins verwendet. Zu diesem Zwecke sind sie in Wasser gelöst und durch Eindampfen bei vermindertem Druck möglichst von Essigsäure befreit worden. Die Lösung wurde dann auf ganz kleinem Volumen eingedampft und kristallisieren gelassen. Diese Kristallisation wurde dann durch Oxydieren mittels Kaliumchromat und 25 prozentiger Schwefelsäure auf die Anwesenheit von Phenylalanin untersucht. Man konnte dabei die Bildung von Phenylessigsäurealdehyd und Benzoesäure wahrnehmen. Es wurde dann versucht, die Säure durch Ausfällen mittels Phosphorwolframsäure zu erhalten. Es gelang aber nicht, die Substanz in reinem Zustande zu gewinnen.

Die Analyse des Filtrates von Fraktion II wurde dann vorgenommen. Diese sollte auf die Anwesenheit von Thymin, α-Prolin, Oxyprolin, Asparaginsäure, Alanin und Glykokoll untersucht werden.

Die Isolierung des Thymins gelang ohne Schwierigkeiten mittels Mercuriacetatlösung. Eine 10 prozentige Lösung des Salzes wurde so lange zugegeben, bis noch ein Niederschlag entstand. Dieser Niederschlag wurde dann auf die übliche Weise vom Quecksilber befreit und die resultierende Lösung bis zur beginnenden Kristallisation eingedampft. Die erste Substanz, die dabei ausfiel, war Tyrosin. Das Filtrat vom Tyrosin wurde weiter eingedampft und kristallisieren gelassen. Die auf diese Weise dargestellte Substanz besaß alle Eigenschaften des Thymins. Zur Analyse war sie aus verdünnter Schwefelsäure umkristallisiert und im Toluolbad getrocknet.

0,1276 g der Substanz gaben bei der Verbrennung 0,2246 g CO_2 und 0,0516 g H_2O.

Für $C_5H_6N_2O_2$

Berechnet	Gefunden
C = 47,61	48,02
H = 4,76	4,49

Im Filtrate von Thymin war noch eine Substanz mit leicht abspaltbarem Schwefelwasserstoff enthalten. Die Ausbeute an der Substanz war zu klein, um sie rein darzustellen. Es gelang, ein amorphes Silbersalz mit 42,8% Ag und 4,63% S zu gewinnen. Aber auch das Salz reichte nicht für eine vollkommene Analyse.

Die Änderung der Löslichkeit einer Aminosäure bei Anwesenheit von anderen Aminosäuren ist am besten sichtbar am Tyrosin. Es kommt oft bei fraktionierter Kristallisation eine Ausscheidung von Tyrosin vor, nach welcher eine Ausscheidung von anderen Säuren, die vom Tyrosin frei sind, folgt, und dann wieder eine Ausscheidung von Tyrosin.

Das Filtrat vom Mercuriacetatniederschlage war von Quecksilber und möglichst von Essigsäure befreit und die Lösung zur Isolierung der anderen Aminosäuren verwendet; nämlich: α-Prolin, Oxyprolin, Glykokoll, Alanin und Asparaginsäure.

Zu diesem Zweck wurde die Lösung mit einem ganz kleinen Überschuß von Kupferoxyd gekocht, filtriert, bei vermindertem Druck so weit wie möglich eingedampft und dann der Rest in drei Fraktionen geteilt: nämlich in eine in heißem absoluten Alkohol lösliche, in die zweite, die aus dem Reste von der ersten durch Extraktion mittels 75% Alkohol erhalten war, während die dritte aus dem Reste nach der Extraktion der zweiten Fraktion bestand.

α-Prolinfraktion. Die alkohollöslichen Kupfersalze wurden von Kupfer befreit; die Lösung der Fraktion dann zur Trockne eingedampft und mit absolutem Alkohol ausgekocht. Dieser alkoholische Auszug wurde mit dem ähnlichen Auszug der Fraktion II vereinigt, mit der berechneten Menge von Bariumhydrat und Wasser nach Fischers Verfahren bei 150° C im Autoklaven 4 Stunden erhitzt, von Bariumhydrat befreit; die Lösung wieder eingedampft und mit Alkohol extrahiert, und aus diesem Auszuge versucht, das Kupfersalz des inaktiven α-Prolins

darzustellen. Es gelang aber nicht, die Substanz zu gewinnen, obwohl bei der Gelatine und bei dem Eiweißalbumin das ohne Schwierigkeiten möglich war.

Auch aus der Fraktion, löslich in 75% Alkohol, gelang es keine Oxysäure darzustellen, wie das der Fall bei den zwei anderen Proteinen war.

Der Rest der Kupfersalze wurde von Kupfer befreit, die wässerige Lösung der Fraktion mit Schwefelsäure bis zu einem Gehalt von 5% gebracht und mit konzentrierter Phosphorwolframsäurelösung (4 Teile Säure auf 1 Teil Wasser) behandelt und über Nacht bei $-1°$ C stehen gelassen. Das kristallinische Phosphorwolframat wurde dann auf übliche Weise vom Reagens befreit, bis zu ganz kleinem Volumen eingedampft, mit Alkohol übergossen und über Nacht stehen gelassen. Es bildete sich ein süßschmeckender Niederschlag, der 5,4 g betrug.

Dieser Niederschlag wurde in möglichst wenig Wasser aufgelöst und mit alkoholischer Pikrinsäure behandelt und einige Tage bei $-1°$ C stehen gelassen. Es bildete sich ein kristallinischer Niederschlag, der aus möglichst wenig Wasser umkristallisiert, die Zusammensetzung von Glykokollpikrat ergab: Die Ausbeute betrug 1,6 g.

Die Zusammensetzung des im Toluolbad getrockneten Präparates war die folgende:

0,1601 g der Substanz gaben 24,20 ccm (über 50% KOH) bei $p = 758$ mm und $t°$ 28,0° C.

Für $C_2H_5NO_2 \cdot C_6H_2(NO_2)_3OH$

Berechnet	Gefunden
N = 18,35%	= 18,38%

Das Filtrat von Glykokolpikrat wurde von Pikrinsäure mittels Äther und Schwefelsäure und dann mittels Baryt quantitativ von Schwefelsäure befreit. Die Lösung wurde dann eingedampft und mit Alkohol behandelt, man erhält auf diese Weise das Alanin.

0,2295 g der Substanz im Toluolbad getrocknet, gaben bei der Verbrennung 0,3372 g CO_2 und 0,1616 g H_2O.

Für $C_3H_2NO_2$

Berechnet	Gefunden
C = 40,41	= 40,07%
H = 7,92	= 7.88%

Das Filtrat vom kristallinischen Phosphorwolframat wurde von Phosphorwolframsäure befreit und zur Darstellung der Asparaginsäure benutzt, es gelang aber nicht, die Substanz rein darzustellen.

Nach dieser Analyse fehlte es also hauptsächlich an α-Prolin und an Asparaginsäure.

Es wurde der Versuch, diese Substanzen darzustellen, wiederholt. 200 g des Nucleoproteids wurden zum Experimente gebraucht. Die Substanz wurde gerade wie beim ersten Versuch hydrolysiert, die Glutaminsäure und die Salzsäure entfernt, und ohne die „Hexonbasen" zu entfernen, die Tyrosin- und Leucinfraktionen abgeschieden. Das Filtrat von der Leucinfraktion wurde mit Bleizucker und Ammoniak so lange behandelt, bis sich ein Niederschlag bildete. Es verlangte ziemlich große Quantitäten der Reagenzien. Die Fällung schien sehr voluminös, setzte sich aber zu einem kompakten Niederschlage ab. Dieser wurde dann in Essigsäure aufgenommen, von Blei mittels Schwefelwasserstoff befreit und zu einem kleinen Volumen eingedampft. Die sirupöse Lösung wird mit Alkohol versetzt und stehen gelassen. Es schieden sich dabei lange prismatische Nadeln aus, die stark sauer schmeckten, bei der Sublimation kein Pyrrol lieferten; sie bildeten mit Kupferacetat das typische asparaginsaure Salz und hatten die folgende Zusammensetzung:

0,2768 g der Substanz gaben 0,3696 g CO_2 und 0,1334 g H_2O.

Für $C_4H_7NO_4$

	Berechnet	Gefunden
C	= 36,07%	36,42%
H	= 5,30%	5,39%

Die Ausbeute betrug etwa 1,0 g.

Das Filtrat vom Bleiacetatniederschlage wurde von Blei mittels Schwefelwasserstoff befreit, dann mit Bariumcarbonat gekocht, um das Ammoniak möglichst zu entfernen, das Baryum mit Schwefelsäure entfernt und die Lösung mehreremal bei vermindertem Druck eingedampft, um sie von Essigsäure möglichst zu befreien. Die resultierende Lösung wurde dann mit Kupferoxyd behandelt und gerade wie im vorigen Experimente zur Darstellung des Prolins verwandt. Es gelang aber nicht, die Substanz zu gewinnen.

Basische Bestandteile.

Die „Hexon- und Pyrimidinbasen" wurden aus demselben Materiale, welches zur Analyse der Aminosäuren angewandt war, dargestellt, während zur Gewinnung der Purinbasen eine besondere Portion von 100 g der trocknen Substanz gebraucht wurde.

Wie schon früher erwähnt, wurden die „Hexon-" und Pyrimidin-, auch noch der nicht zersetzte Teil der Purinbasen, mittels 10prozentiger Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag wurde in üblicher Weise von der Phosphorwolframsäure befreit, und die Lösung dieser Fraktion mittels einer 10prozentigen Mercuriacetatlösung in drei Fraktionen geteilt.

Die erste Fraktion enthielt Purinbasen, Cytosin und Histidin. Sie wurde erhalten durch Zusetzen vom Reagens, solange sich noch ein Niederschlag bildete.

Die zweite Fraktion wurde erhalten durch Zusetzen von Barytwasser bis zur alkalischen Reaktion zu dem Filtrate von der ersten Fraktion. Sie bestand hauptsächlich aus Arginin, enthielt aber auch Lysin.

Die dritte Fraktion bestand aus dem Filtrate von Fraktion II und enthielt nur Lysin.

Ich will auch bemerken, daß man aus der Gesamtfraktion noch einige Gramm Leucin gewinnen konnte.

Fraktion I. Die Lösung dieser Fraktion wurde mit Salpetersäure angesäuert, mit einem kleinen Überschuß von Silbernitrat behandelt, filtriert und dann stehen gelassen. Dabei bildete sich ein Niederschlag, der aus Purin-Silbersalzen bestand. Das Filtrat von diesem wurde mit Barytwasser neutralisiert; der sich dabei bildende Niederschlag wurde von Silber und von Baryt befreit, zu einem ganz kleinen Volumen eingedampft und über Schwefelsäure im Exsikkator stehen gelassen. Es bildete sich ein Niederschlag, der aus ganz eigenartigen Kristallen bestand, welche in ihrem Aussehen denen der Pyrimidin- oder Purinbasen nicht ähnlich sahen. Die Ausbeute der Substanz betrug 2,5% und die Zusammensetzung war die folgende:

0,1827 g der Substanz gaben bei der Verbrennung 0,2811 g CO_2 und 0,0725 g H_2O.

Für $C_4H_5N_3O$

Berechnet	Gefunden
C = 43,18%	41,96%
H = 4,53%	4,44%

Die Zusammensetzung also gab die Veranlassung, an Cytosin zu denken. Nun ergab sich, daß die Substanz noch Spuren von Baryt enthielt; wurden diese entfernt, so gelang es ohne Schwierigkeiten, perlmutterglänzende Kristalle des Cytosins zu erhalten. Da sich das Aussehen der Kristalle doch etwas von dem des üblichen Cytosins zu unterscheiden schien, wurde das Präparat mit einem aus Milznucleinsäure dargestellten verglichen. Dasselbe Präparat wurde mit einem von Prof. Wheeler vor einigen Jahren auf synthetischem Wege dargestellten Präparat verglichen. Nun erwies sich der Schmelzpunkt etwas verschieden von dem des synthetischen Cytosins. Das hier erhaltene Präparat sinterte bei 305° C und zersetzte sich bei 315°.

Das synthetische sinterte bei 310° und zersetzte sich bei 320° C. Nun aber enthielt auch die neue Substanz ein Molekül Kristallwasser.

0,4762 g der lufttrocknen Substanz haben, im Toluolbad getrocknet, 0,0650 g an Gewicht verloren.

Für $C_4H_5N_3O.H_2O$

Berechnet	Gefunden
H_2O = 13,95	= 13,64%

Man darf also nicht an das Isocytosin von Wheeler und Johnson denken.

Das Aussehen des Chlorplatinats schien von dem üblichen Chlorplatinat sich etwas zu unterscheiden; das basische schwefelsaure Salz hatte das typische Aussehen des entsprechenden Salzes des üblichen Cytosins. Was die Pikrate betrifft, muß man folgendes bemerken: Wird ein Pikrat aus einem basischen Sulfat eines Cytosinpräparates, welches aus einer Nucleinsäure entsteht, dargestellt, so enthält man gewöhnlich zwei Kristallformen: nämlich lange prismatische Nadeln und andere blätterartige. Bei dem Präparate, welches man in diesem Falle erhielt, wurden alle Kristalle einheitlich und bestanden aus prismatischen Nadeln. Der Schmelzpunkt der Substanz lag bei 265° C.

Es lag also ein Cytosinpräparat vor, welches in den physikalischen Eigenschaften etwas von dem Normalcytosin abwich. Die Ursache der Abweichung kann noch nicht aufgeklärt werden.

Das Filtrat vom Cytosin war mit alkoholischer Picrolonsäurelösung behandelt. Einmal aus ganz wenig Wasser umkristallisiert, besaß die Substanz die Zusammensetzung des Histidinpicrolonats.

0,1483 g der Substanz gaben bei Verbrennung 31,5 ccm Stickstoff (über 50% KOH), bei $t^\circ = 23,5$ und $p = 763$ mm.

Für $C_6H_7N_3O_2 . (C_{10}H_8N_4O_5)_2$

Berechnet	Gefunden
N = 23,87%	= 24,02%

Fraktion II. Die Lösung dieser Fraktion wurde nach dem Verfahren von Kutscher und Kossel mit Silbersulfat und Bariumhydrat in drei Fraktionen geteilt. Aus zwei Silberfällungen gelang es mittels Picrolonsäure nur Argininpicrolonat darzustellen. Die Zusammensetzung eines solchen Präparates, einmal aus Wasser umkristallisiert, war die folgende:

0,1590 g der Substanz gaben bei der Verbrennung 35,0 ccm Stickstoff (über 50% KOH), bei $p = 764$ mm und $t^\circ = 27^\circ$ C.

Für $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot C_{10}H_8N_4O_5$

Berechnet	Gefunden
N = 25,61	= 25,31

Das Filtrat der Silbersalze wurde von Silber und Baryt befreit und mittels alkoholischer Pikrinsäure behandelt, man erhielt das typische Lysinpikrat.

Aus der Fraktion III gelang es nur Lysin darzustellen. Die Analyse des Pikrates ergab die folgenden Zahlen:

0,1500 g der Substanz gaben bei Verbrennung 0,2113 g CO_2 und 0,0000 g H_2O.

Für $C_6H_{14}N_2O_2 . C_6H_2(NO_2)_3OH$

Berechnet	Gefunden
C = 38,40	38,48%
H = 4,50	4,49%

Die Ausbeute an Histidinpicrolonat betrug etwa 1 g, an Argininpicrolonat 8 g und an Lysinpikrat 29,0 g.

Purinbasen.

Zur Gewinnung dieser Basen wurden 100 g des Proteids mittels 3prozentiger Schwefelsäure 10 Stunden in kochendem Wasserbade erhitzt, die Purinbasen mit Phosphorwolframsäure gefällt und wieder in die Silbersalze übergeführt. Guanin wurde dann als freie Base erhalten und Adenin als Pikrat. Die Ausbeuten betrugen: Guanin = 2,8 g und Adeninpikrat 2,2 g.

Also auf 100 g Substanz berechnet, wurden aus dem Milznucleoproteid die folgenden Mengen erhalten:

Glykokol	1,5 g
Alanin	
Aminovaleriansäure	5,5 g
Leucin	
Phenylalanin	
Asparaginsäure	0,2 g
Glutaminsäure	25,0 g
Tyrosin	1,5 g
Histidin	0,2 g
Arginin	1,0 g
Lysin	3,0 g
Thymin	0,2 g
Cytosin	0,6 g
Adenin	0,8 g
Guanin	2,0 g

Die neueren Ansichten über den chemischen Verlauf der Gärung.

Vortrag, gehalten auf der Hauptversammlung des Deutschen Chemikervereins in Danzig.

Von

A. Wohl.

(Aus dem organisch-chemischen Laboratorium der Technischen Hochschule zu Danzig.)

(Eingegangen am 8. Juni 1907.)

Indem ich die neueren Ansichten über den chemischen Verlauf der Gärung darlege, werde ich hauptsächlich vom Wasser als Bestandteil organischer Verbindungen zu sprechen haben, von den Folgen, die der Ein- und Austritt dieses Bestandteiles herbeiführt, und den Umständen, durch welche Vorgänge dieser Art bedingt werden.

Der Altmeister unserer Wissenschaft, Adolf von Baeyer[1]), hat vor bald 50 Jahren zuerst dem Gedanken Ausdruck gegeben, daß neben Oxydation und Reduktion die Wasserabspaltung aus organischen Verbindungen eine biologisch überaus wichtige Reaktion darstellt, und schon damals als das für den Chemiker naheliegendste Beispiel die Ähnlichkeit der Gärung, die aus Zucker, Alkohol und Kohlensäure erzeugt, mit einer Reihe einfacher chemischer Reaktionen hervorgehoben, die unter dem Einfluß wasserentziehender Mittel bei hohen Temperaturen verlaufen. Diese Auffassung von dem chemischen Verlauf der Gärung hat lange Zeit hindurch keine befruchtende Wirkung ausgeübt, die zu weiteren Arbeiten angeregt hätte, weniger wohl, weil die Frage erschöpfend geklärt erschien, als weil die Zeit der nächsten Jahrzehnte der Erörterung solcher Gedanken wenig günstig war. Das wollen wir mit ein paar Worten näher beleuchten.

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **3**, 74, 1870.

Baeyers Ausführungen war ausdrücklich die Auffassung Liebigs zugrunde gelegt, daß die Hefe dem gärenden Zucker nur einen Anstoß erteile, der der Wirkung der Wärme und der Wasser entziehenden Mittel vergleichbar sei. Diese Auffassung aber wurde bald mehr und mehr zurückgedrängt durch die auf Pasteurs Forschungen ruhende Ansicht, daß der Gärungsvorgang und das pflanzliche Leben der Hefe unmittelbar miteinander verknüpft seien. Vom letzteren Standpunkt aber, besonders in seiner ursprünglichen Schärfe aufgefaßt, erschien ein Versuch, den Gärungsvorgang in eine einfache chemische Gleichung zu fassen, von vornherein wenig aussichtsvoll.

Der Widerstreit der Meinungen, der sich an Liebigs und Pasteurs Gärungstheorie knüpfte, berührte weit über die vorliegende Frage hinaus das ganze Gebiet der Lebensvorgänge. In jeder Zelle des Pflanzen- und Tierkörpers beobachten wir chemische Reaktionen, die außerhalb der Zelle bei gleicher Temperatur nicht eintreten. Allerdings war es lange bekannt, daß einzelne solcher besonderen Wirkungen, z. B. die hydrolytische Spaltung der Stärke an die Gegenwart bestimmter Substanzen, Enzyme, geknüpft war, die sich aus den pflanzlichen oder tierischen Stoffen durch einfaches Lösen mit Wasser herausziehen und durch passende Reinigungsmethoden zu Präparaten von hoher Wirksamkeit konzentrieren ließen. Eines der best bekannten, so darstellbaren Enzyme ist die Diastase des Malzkeimes, die die Stärke verflüssigt und in Zucker umwandelt. Aber eine solche Isolierung der wirksamen Substanz war nur in einzelnen ziemlich einfachen Fällen erreichbar, in denen es sich um hydrolytische Spaltungen handelte, die auch durch rein chemische Katalysatoren herbeigeführt werden konnten.

Bis vor kurzem unterschied man demgemäß scharf und prinzipiell solche Wirkungen, wie sie z. B. die Diastase hervorbringt, bei denen das wirkende Enzym sich in Wasser löst, von anderen Lebensäußerungen der Organismen, z. B. der Gärung, bei denen es nicht gelang, ein wirkendes Enzym in Lösung zu gewinnen. Wird die Hefe, die Zucker vergärt, mit Wasser oder anderen Lösungsmitteln ausgelaugt und die Flüssigkeit durch Filtrieren vom Unlöslichen getrennt, so hat die Lösung nicht die Fähigkeit angenommen, Zucker zu vergären, und darauf vor allem ruhte Pasteurs Ansicht, daß der Zucker nur in Berüh-

rung mit dem lebenden Hefepilz vergären könne. Erst vor etwa 10 Jahren ist in dieser Frage eine entscheidende Wendung erfolgt. E. Fischer[1]) war es zuerst in Gemeinschaft mit P. Lindner gelungen, bei dem Schimmelpilz Monilia candida, der Rohrzucker spaltet, durch mechanische Verreibung mit Glaspulver das wirkende Enzym, das sonst nicht in Lösung ging, auszuziehen. Buchner[2]) fand dann: die alkoholische Gärung wird ebenso wie die Zerlegung der Stärke in Zucker durch ein lösliches Enzym bewirkt, das er Zymase nannte, nur daß dieses Enzym die Zellhaut, die den Hefepilz umschließt, nicht zu durchdringen vermag. Wird die Hefe aber andauernd in geeigneter Art verrieben, bis alle Hefezellen zerrissen sind, dann laugt Wasser auch dieses Enzym ebenso aus, wie Diastase aus dem Malzkeim, wie das invertierende Enzym aus den zerrissenen Zellen von Monilia candida.

Damit war der Streit der Meinungen, der sich an Liebigs und Pasteurs Gärungstheorien knüpfte, entschieden, und zwar, wie so oft in der Geschichte der Wissenschaften, in einem Sinne, der beiden miteinander kämpfenden Richtungen jeder zu ihrem Teile recht gab und den Erfahrungsinhalt derselben vereinigte. Denn die Wirkung selbst erwies sich im Sinne Liebigs als durchaus gleichartig mit den längst näher bekannten katalytischen und enzymatischen Vorgängen, und die Verknüpfung mit dem Lebensvorgang der Hefe im Sinne Pasteurs blieb als notwendige Bedingung gewahrt, weil nur dieser den wirksamen Katalysator hervorbringt.

Seit dieser wichtigen Entdeckung hat sich die Überzeugung, daß alle chemischen Reaktionen des lebenden Körpers unter dem Einfluß von Enzymen verlaufen, mehr und mehr befestigt.

Jede Zelle des Pflanzen- und Tierkörpers enthält Enzyme, die die Fähigkeit haben, die Vorgänge, die dem Lebenszweck des Organismus günstig sind, auszulösen und schädliche Vorgänge, vielleicht nur indirekt, zu hemmen. Die Tätigkeit dieser Enzyme erweist sich ausnahmslos an die Gegenwart des Wassers geknüpft, beim Austrocknen wird ihre Wirkung bis zur Unmerklichkeit herabgesetzt, um im allgemeinen bei Wiederanfeuchtung von

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 30, 117.

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 28, 3037.

neuem zu beginnen. So müssen wir uns den viele Jahre erhaltbaren Ruhezustand der Sporen der Pilze, der Eier mancher Tiere, des trocknen Samenkorns vorstellen. Sobald dagegen das eingeweichte Gerstenkorn genügend Wasser aufgenommen hat, beginnen die im Keim enthaltenen Enzyme wirksam zu werden, die Diastase löst die im Korn abgelagerte Stärke, andere Enzyme die Eiweißstoffe, und weitere unbekannte Enzyme bewirken die chemischen Umsetzungen der gelösten Stoffe, die zu dem Wachsen des Keims und der ganzen Pflanze nötig sind. Die Tatsache, daß die Enzyme dabei eine auswählende Wirkung haben, also von nahe verwandten Vorgängen nur den einen beeinflussen, den anderen nicht, ist besonders durch die Forschungen E. Fischers[1]) klargestellt und durch das glückliche Bild von Schloß und Schlüssel erläutert worden, die zueinander passen müssen, um aufeinander zu wirken. Dieses Bild entspricht dem Standpunkte, daß das Enzym nicht nur ein Reaktionsmedium darstellt, sondern im Sinne der Zwischenreaktionskatalyse mit der enzymatisch beeinflußten Substanz primär in Bindung tritt und, wie es scheint, auch mit dem Spaltungsprodukt.[2]) Daraus aber kann man ableiten, daß die Bildung der Enzyme und ihr Verschwinden in der Zelle nach Bedarf durch die allgemeinen Gleichgewichtsbedingungen chemischer Reaktion geregelt[3]) ist. Dabei wirken

---

[1]) Fischer und Thierfelder, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **27**, 2036; E. Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chemie **26**, 60.

[2]) Henri, C. r. **135**, 916 vgl. Oppenheimer, Fermente S. 63 ff.

[3]) Dieser Schluß läßt sich auf die Voraussetzung gründen, daß das Gleichgewicht zwischen Enzym und Zymogen an der Erzeugungsstelle nicht nur durch die Konzentration des freien Enzyms, sondern auch durch die Konzentration einer Enzymverbindung, also um das naheliegende Beispiel der Diastasebildung heranzuziehen, durch das Konzentrationsprodukt Diastase $\times$ Zucker bedingt sein kann. Die Gesamtmenge des Enzyms (E) ist dann teils frei vorhanden, teils an Stärke und teils an Zucker gebunden. Wird nun im keimenden Gerstenkorn für die Atmung usw. Zucker verbraucht, so sinkt die Konzentration desselben (Z) und die Gesamtkonzentration des Enzyms (E) muß unter obiger Voraussetzung durch Bildung aus dem Zymogen steigen, um das das Gleichgewicht regulierende Produkt ($E \times Z$) konstant zu erhalten. Die Zunahme der Enzymmenge wird fortdauern, solange die Geschwindigkeit des Zuckerverbrauchs die Geschwindigkeit der Zuckerbildung durch die wachsende Enzymmenge und des Transports übersteigt und solange der Stärkevorrat ausreicht, die Konzentration des freien Enzyms durch Bindung desselben genügend niedrig zu halten. In dem Maße, in dem die Stärke darüber hinaus verbraucht ist, muß sich aber das freie

die Enzyme epigenetisch, d. h. ihre Wirkung führt auch zur Bildung der neuen Enzyme, wie sie der Fortgang der Entwicklung erfordert. Beim Erwärmen bis zu einem Optimum wird die Wirkung beschleunigt. Bei starker Abkühlung wird sie nicht zerstört, wohl aber während der Dauer der Abkühlung herabgesetzt bzw. unmerklich gemacht; diese Abhängigkeit der Enzymwirkung von der Temperatur reguliert, wie ohne weiteres ersichtlich ist, zusammen mit der Wirkung des Wassers den Gang der Vegetation mit den Jahreszeiten. Natürlich läßt sich der verallgemeinernde Schluß, daß das ganze Wachstum der Pflanze eine Abwicklung enzymatischer Vorgänge darstelle, nicht im einzelnen beweisen, aber dieser Schluß hat gerade durch die Erfahrungen bei der Gärung, durch die anschließenden Arbeiten von Stocklasa über die Beziehung von Gärung und Atmung, durch die Auffindung der Oxydasen u. a. m. die höchste Wahrscheinlichkeit gewonnen.

Mit der Auffassung der Lebensvorgänge als enzymatisch beeinflußter chemischer Reaktionen war nun auch wieder der Boden geebnet für eine Weiterführung der Baeyerschen Theorie von dem chemischen Verlauf der Gärung. Der leitende Gedanke Baeyers, daß es sich hier um Wasserwirkung, um die Verschiebung von Wasserstoff und Hydroxylgruppen handelt, hatte durch die eben geschilderte Entwicklung die stärkste Stütze

---

Enzym wieder anhäufen und es wächst damit bei gleichbleibender Zuckerkonzentration das Konzentrationsprodukt ($E \times Z$). Dementsprechend wird von nun an die Neubildung von Enzym aus Zymogen wieder zurückgehen. Das gleiche tritt natürlich auch vor Abnahme des Stärkevorrats ein, wenn aus irgendwelchen Gründen der Zuckerverbrauch sinkt und dadurch die Zuckerkonzentration steigt.

Mit dieser Überlegung steht im Einklange, daß Enzymbildung überhaupt nicht bzw. nicht in merklichem Maße auftritt, wenn der Zelle das erforderliche Spaltungsprodukt von vornherein in genügender Konzentration fertig dargeboten wird. Zahlreiche diesbezügliche Beobachtungen sind bei Oppenheimer, Fermente S. 82 u. 83 zusammengestellt.

Bei der Hefe, bei der die erzeugten Zuckerspaltungsprodukte keine biologische Verwendung finden, scheint das Gleichgewicht zwischen Zymogen und Zymase auf der Konzentration des freien Enzyms für sich zu beruhen, denn hier tritt stärkere Anreicherung an Zymase ein, wenn sich die Hefe in konzentrierteren Zuckerlösungen entwickelt, also die Konzentration des freien Enzyms durch Bindung vermindert wird.

gewonnen. Alle Enzyme, die Fett, die Zucker, die Eiweiß spalten, wirken ja wasseranlagernd, alle aufbauenden Enzyme wasserabspaltend, und eine große Reihe von Erfahrungen spricht dafür, daß bei Enzymen wie bei den chemischen Katalysatoren beide Arten von Wirkungen regelmäßig nebeneinander verlaufen, daß die Beschleunigung eines in der einen Richtung verlaufenden Vorganges notwendig mit der Beschleunigung von Vorgängen, die die entgegengesetzte Richtung haben, verknüpft ist[1]).

Für chemische Katalysatoren, für die Wirkung der Säuren auf die Zuckerarten habe ich vor längerer Zeit das Gegenspiel der spaltenden und aufbauenden Wirkungen der Inversion und Reversion nachgewiesen[2]); E. Fischer[3]) hat dann das einfachste Reversionsprodukt, die Isomaltose, aufgefunden. Croft Hill[4]) verdanken wir die Entdeckung, daß auch bei Enzymen ganz wie bei den chemischen Katalysatoren Wirkung und Gegenwirkung, Wasserabspaltung und Wasseranlagerung zusammen auftreten, daß unter den Bedingungen, unter denen höhere Zuckerarten in einfache gespalten, auch diese wieder zu höheren aufgebaut werden. Für die Zymase selbst ist allerdings die Fähigkeit zur hydrolytischen Spaltung unter Wasseranlagerung noch nicht nachgewiesen. Der interessante Befund F. Ehrlichs[5]), daß das wichtige Nebenprodukt der Gärung, das Fuselöl, sich von Amidosäuren, die aus Eiweißstoffen der Hefe oder der Lösung gebildet werden, durch hydrolytische Abspaltung von Ammoniak und Kohlensäure ableitet, gilt nur für lebende Hefe. Aber die jüngst erschienenen wichtigen Arbeiten von Buchner und Meisenheimer[6]) haben dafür den Beweis geliefert, daß die Zymase selbst direkt Reaktionen bewirkt, die unverkennbar eine Wasserabspaltung darstellen, nämlich Reversion, d. i. Aufbau von einfachen Zuckern zu Polysacchariden. Hierbei wird also intermolekular aus mehreren Molekülen Zucker unter Kondensation Wasser abgespalten, während nach der von Baeyer be-

---

[1]) Van t'Hoff, Vorlesungen.

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **23**, 2097.

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **23**, 3687.

[4]) Chem. Centralbl. **98**, II, 633; Emmerling, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **34**, 600.

[5]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **39**, 4072.

[6]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **39**, 3205.

gründeten Auffassung die Hauptwirkung der Zymase, die Gärung, primär eine Wasserabspaltung darstellt, die sich auf ein Molekül Glycose erstreckt, intramolekular verläuft. Die beiden jüngsten Entdeckungen auf diesem Gebiete, die Aufklärung der Fuselölbildung und der Nachweis der Reversion bei der Zymasegärung, lassen außerdem kaum mehr einen Zweifel, daß bei der Gärung die Verluste und Nebenprodukte auf besondere daneben laufende Reaktionen zurückzuführen sind, und daß der eigentliche Gärungsvorgang einer einfachen Spaltung des Zuckers entspricht, die dann auch in ihren Phasen erforschbar sein muß.

Verfolgen wir nun, wie sich, als der erste, Baeyer[1]) im besonderen die primäre Wasserabspaltung und den weiteren Verlauf gedacht hat. Baeyer hatte mit der Gärung z. B. die Umwandlung des Glycols in Aldehyd verglichen, bei der es sich in der Endwirkung auch um eine Verschiebung des Sauerstoffs von einem zum anderen Kohlenstoffatom handelt. Nach Erörterung einiger anderer Möglichkeiten entscheidet er sich für die Erklärung, daß hier Wasser aus- und wieder eintritt unter anderer Verteilung von H und OH im zweiten Falle, entsprechend dem Bilde, das die folgenden Formeln darstellen:

$$\begin{array}{ccccccccccc} CH_2OH & & OH & & CH_2 & & H & & CH_3 & & C_3H \\ | & - & & \rightarrow & \| & + & & \rightarrow & | & \rightarrow & | \\ CH_2OH & & H & & CH(OH) & & OH & & CH(OH)_2 & & CHO + H_2O. \\ \text{Glycol.} & & & & & & & & & & \text{Aldehyd.} \end{array}$$

Für das Glycol war diese Vorstellung durchaus eindeutig, nicht so für eine Kette von mehr als zwei Kohlenstoffatomen, die jedes mit Sauerstoff verbunden sind. Darüber, in welcher Art in einem solchen Falle das Wasserstoffatom und die Hydroxylgruppe zusammen austreten und wieder eintreten, werden besondere grundsätzliche Annahmen nicht gemacht. Ohne diese aber kann natürlich jede denkbare Verteilung der Hydroxylgruppen, die der beobachtete Endvorgang erfordert, abgeleitet werden, und so ergab sich ohne weiteres eine mögliche Reaktionsgleichung der Gärung, die die folgenden Formeln in der Übersichtlichkeit wegen etwas verkürzter Form zum Ausdruck bringen.

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 3, 74.

$$
\begin{array}{llllllll}
{}_1\ CH(OH)_2 & & CH_3 & & CH_3 & & & CH_3 \\
{}_2\ CH(OH) & & C(OH)_2 & & CH(OH) & H & & CH_2(OH) \\
{}_3\ CH(OH) & \xrightarrow[\text{nach 2, 3 u. 4}]{\text{OH von 1 u. 6}} & C(OH)_2 & \xrightarrow[\text{zwischen 3 u. 4}]{\text{O von 2}} & CO & & & \\
{}_4\ CH(OH) & & C(OH)_2 & & O\langle & & + O \rightarrow & CO_2 \\
{}_5\ CH(OH) & & CH(OH) & & CO & & & CO_2 \\
{}_6\ CH_2(OH) & & CH_3 & & CH(OH) & H & & CH_2(OH) \\
 & & & & CH_3 & & & CH_3 \\
\text{Traubenzucker} & & & & \text{Anhydrid der Milchsäure} & & & \text{Alkohol u. Kohlensäure}
\end{array}
$$

Dieselbe ist gekennzeichnet durch Anhäufung (Akkumulation) des Sauerstoffs von den Enden nach der Mitte der Kohlenstoffkette. Diese Anhäufung des Sauerstoffs lockert die Kohlenstoffbindung, und so zerfällt durch hydrolytische Spaltung das umgeänderte Molekül zunächst in zwei Moleküle Milchsäure, die dann jedes in Alkohol und Kohlensäure gespaltet werden. Der letztere Vorgang wird mit der bekannten Spaltung der Oxalsäure in Ameisensäure und Kohlensäure verglichen, also auch mit einem Vorgang, der unter der Wirkung der Hitze und stark wasserentziehender Mittel verläuft.

An diesen Gedankengang habe ich im Jahre 1901 angeknüpft; Wohl und Oesterlin[1]) untersuchten den Einfluß wasserabspaltender Mittel auf die Weinsäure. Das war eine ganz ähnliche Reaktion wie diejenige, welche Baeyer zum Vergleich mit der Gärung herangezogen hatte, gekennzeichnet dadurch, daß eine Hydroxylgruppe und ein Wasserstoffatom ihren Platz vertauschen und dann Wasser abgespaltet wird, so daß statt der beiden in verschiedene Kohlenstoffatome gebundenen Hydroxylgruppen eine CO-Gruppe auftritt. Dieser Vorgang aber verlief bei der Weinsäure nicht bei hoher Temperatur, sondern er ließ sich in der Kälte durchführen und auch in seinen einzelnen Phasen verfolgen. So ergab sich zunächst, daß die Erklärung der Hydroxylverschiebung als Abspaltung von $\genfrac{}{}{0pt}{}{OH}{H}$ und nachfolgender Anlagerung von $\genfrac{}{}{0pt}{}{H}{OH}$, also in umgekehrter Anordnung, hier nicht zutraf und damit auch für andere Fälle unwahrscheinlich wurde. Es findet allerdings Wasserabspaltung statt, in diesem Falle

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **34**, 1139.

indirekt, indem erst ein Acetat gebildet wird und dann Essigsäure austritt. Die Wiederanlagerung von Wasser aber ist ausgeschlossen, da der weitere Vorgang in einem wasserfreien Medium (Pyridin und Essigsäureanhydrid) vor sich geht. Für den Übergang der Glycolgruppierung in die Ketongruppe blieb demnach nur die Erklärung übrig, daß sich der zunächst entstandene ungesättigte Alkohol direkt unter Verschiebung eines Wasserstoffatoms umlagert, d. i. die bekannte Enol-Keto-Verschiebung erleidet, für deren überaus leichtes Auftreten so zahlreiche andere Beispiele bekannt sind.

$$
\begin{array}{l}
\mathrm{COOH} \\
\mathrm{CH(OH)} \\
\mathrm{CH(OH)} \\
\mathrm{COOH} \\
\text{Weinsäure.}
\end{array}
\begin{array}{c}
\mathrm{H} \\
- \\
\mathrm{OH}
\end{array}
\rightarrow
\begin{array}{c}
\mathrm{COOH} \\
| \\
\mathrm{C(OH)} \\
\| \\
\mathrm{CH} \\
| \\
\mathrm{COOH}
\end{array}
\rightleftarrows
\begin{array}{c}
\mathrm{COOH} \\
| \\
\mathrm{CO} \\
| \\
\mathrm{CH_2} \\
| \\
\mathrm{COOH} \\
\text{Oxalessigsäure.}
\end{array}
$$

Damit war die Hydroxylverschiebung zurückgeführt auf Wasserabspaltung an benachbarten Kohlenstoffatomen und Tautomerie des entstandenen Enol mit der zugehörigen Ketoverbindung. Dieser Auffassung passen sich ohne weiteres alle anderen näher bekannten Beispiele von Hydroxylverschiebung unter Wasserabspaltung an. Ein Vorgang, bei dem Wasserabspaltung von zwei nicht benachbarten Kohlenstoffatomen irgendwie wahrscheinlich wäre, ist überhaupt nicht bekannt.

Überträgt man diese Erfahrung auf die Gärung, so ist damit die Zahl der möglichen Hydroxylverschiebungen gegenüber der älteren Auffassung sehr wesentlich beschränkt, und die von Baeyer angenommene Verschiebung des Sauerstoffs von den Enden der Kette zur Mitte erscheint mit bekannten Vorgängen nicht mehr vergleichbar. Um zu einem Bilde von größerer innerer Wahrscheinlichkeit zu gelangen, mußte man die Ergebnisse heranziehen, die über die Leichtigkeit der Wasserabspaltung aus Hydroxylverbindungen, je nach der Beziehung der Gruppen zueinander inzwischen gesammelt sind. Dann bleibt von den zahlreichen Möglichkeiten, die von vornherein vorlagen, eigentlich nur eine Reaktionsgleichung übrig, die ich aus den an der Weinsäure gewonnenen Ergebnissen folgerte und 1904 gelegentlich

in **Lippmanns** Werk über die Chemie der Zuckerarten[1]) mitgeteilt habe.

```
                                                   Methylglyoxal  Milchsäure  Kohlensäure
                                                                              und Alkohol
1 CHO                  CHO       CHO               CHO            COOH        CO2
  |                    |         |                 |              |           ----------
2 CH(OH)      H        C(OH)     CO                CO       →     CH(OH)      CH2(OH)
  |         — OH →     ||        |                 |              |           |
3 CH(OH)               CH        CH2               CH3            CH3         CH3
  |                    |    ⇄    |          →    -------------------------------------
4 CH(OH)               CH(OH)    CH(OH)            CHO                   CHO       CHO
  |                    |         |                 |          H          |         |
5 CH(OH)               CH(OH)    CH(OH)            CH(OH) — OH →         C(OH) ⇄   CO    usw.
  |                    |         |                 |                     ||        |
6 CH2(OH)              CH2(OH)   CH2(OH)           CH2(OH)               CH2       CH3
Traubenzucker.                                     Glycerinaldehyd.      Methylglyoxal.
```

Da die Bindung zwischen Wasserstoff und Kohlenstoff leichter lösbar wird, wenn das Kohlenstoffatom sogenannte reaktive Gruppen, insbesondere CO-Gruppen gebunden hält, so erscheint die Abspaltung von einem Molekül Wasser aus dem Traubenzucker am stärksten begünstigt, wenn das reaktiv beeinflußte Wasserstoffatom vom zweiten Kohlenstoff mit einer Hydroxylgruppe als Wasser austritt, und dafür kommt nur die Hydroxylgruppe vom 3. C-Atom in Betracht. Das ist nichts anderes als der Ausdruck der experimentellen Erfahrung, daß von Oxydaldehyden und Oxysäuren nur die β-Oxyverbindungen in dieser Art leicht Wasser abspalten, alle anderen aber nicht. Demgemäß ist durch Austritt von einem Molekül Wasser aus einen Molekül Glycose von vornherein eine ganz bestimmte ungesättigte Verbindung zu erwarten, welche als Enol der Ketoumlagerung fähig ist. Ein Blick auf die Formel dieser Ketoverbindung aber zeigt, daß eine leicht eintretende hydrolytische Spaltung nur an einer Stelle begünstigt erscheint, und zwar so, daß ein Zerfall in zwei Spaltungsstücke von je drei Kohlenstoffatomen eintritt. Die Formel stellt nämlich eine Verbindung dar, die durch Aldolkondensation aus Glycerinaldehyd und Methylglyoxal sich aufbauen würde, und wir wissen, daß die durch solche Aldolkondensation entstehenden Produkte erfahrungsgemäß leicht und gerade auch unter den Bedingungen, die die Kondensation herbeiführen, an der Stelle der Aneinanderfügung wieder hydrolytisch sich spalten. Auf diese recht allgemeine Gesetzmäßigkeit

---

[1]) S. 1891.

hat zuerst Claisen[1]) aufmerksam gemacht, und dieselbe ist durch die Erfahrung dann vielfach bestätigt worden. Ostwald[2]) hat auf den Zusammenhang mit der allgemeinen Gleichgewichtsbedingung chemischer Reaktionen hingewiesen. Wir gelangen so also ohne besondere Annahmen, die eine Vorwegnahme des bekannten Endvorganges enthielten, nur unter Anwendung gut begründeter Erfahrungen aus anderen Gebieten zu einer Gleichung, bei der das Molekül Traubenzucker zunächst durch Wasseraustritt und nachfolgende hydrolytische Spaltung in ein Molekül Glycerinaldehyd und ein Molekül Methylglyoxal zerfällt.

Daß die rein chemische Spaltung des Traubenzuckers in alkalischer Lösung in diesem Sinne verläuft, dafür ließen sich schon damals zahlreiche Gründe anführen, die inzwischen durch weitere Erfahrungen verstärkt worden sind.

So hat Pinkus[3]) bei der Abspaltung des Traubenzuckers in alkalischer Lösung bei Gegenwart von Phenylhydrazin das Osazon des Methylglyoxals erhalten. Er selbst führte diesen Befund freilich nicht auf Doppelhydrazinbildung aus primär entstandenem Methylglyoxal zurück, sondern auf Osazonbildung aus Acetol. Aber die dafür angeführten Gründe erschienen unzureichend. Später hat Nef sie noch besonders widerlegt, indem er zeigte, daß das Acetol in alkalischer Lösung weder der Osazonbildung fähig ist noch Milchsäure bildet. Auch die Bildung der Saccharine aus den Zuckern, die Kiliani[4]) vor längerer Zeit studiert hatte, kann nach seinen Beobachtungen nicht anders gedeutet werden, als durch eine Aldolkondensation zwischen primär entstandenem Glycerinaldehyd und Milchsäure. Eine weitere Bestätigung lieferten die interessanten Beobachtungen von Knoop und Windaus[5]), daß in ammoniakalischer Lösung der Traubenzucker unter bestimmten Bedingungen eine stickstoffhaltige Base, das Imidazol, liefert, deren Auftreten nur verständlich erscheint, wenn zunächst Methylglyoxal durch Spaltung des Traubenzuckers entstanden war.

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **20**, 2179; **24**, 122; **26**, 2319.

[2]) Grundriß S. 520.

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **31**, 31.

[4]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **17**, 1302. A. Windaus, Chem.-Zeitg. 29, Nr. 41, 1905.

[5]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **38**, 1167.

Eine sehr einfache Beziehung besteht zwischen Glycerinaldehyd und Methylglyoxal, die nach obiger Gleichung nebeneinander entstehen. Ein Blick auf die Formel zeigt, daß in Glycerinaldehyd ein β-Oxyaldehyd mit einem durch die Aldehydgruppe reaktiv beeinflußten Wasserstoffatom vorliegt, und demnach wie im ursprünglichen Zucker die Abspaltung von Wasser in einem bestimmten Sinne begünstigt ist, und zwar so, daß sie zum Methylglyoxal führt; das konnte ich experimentell bestätigen[1]), denn in schwach alkalischer Lösung liefert reiner Glycerinaldehyd bei Gegenwart von Phenylhydrazin dasselbe Methylglyoxalosazon, das unter ähnlichen Bedingungen Pinkus aus Traubenzucker erhalten hatte.

Auch für den Weg, der nun vom Methylglyoxal weiter führt, braucht man keine Annahmen zu machen, die nicht durch feststehende ältere Erfahrungen berechtigt erscheinen. Wie man weiß, gehen Verbindungen mit der Gruppe CO—CHO (Ketoaldehyde) in alkalischer Lösung regelmäßig in die zugehörigen Oxysäuren über. Es wird also Methylglyoxal, wie das in der Tabelle weiter formuliert ist, unter entsprechenden Bedingungen Milchsäure liefern, und so trifft die Reihe der Schlüsse, zu denen ich gelangt war, wieder zusammen mit dem von Baeyer vorgezeichneten Wege. Allerdings alle zuvor angeführten Gründe haben unmittelbare Anwendbarkeit nur für den Verlauf der Traubenzuckerspaltung in alkalischer Lösung, die ja in der Tat unter geeigneten Versuchsbedingungen etwa die Hälfte des Traubenzuckergewichts an Milchsäure liefert. Aber inzwischen sind nun auch weitere Erfahrungen gewonnen worden, die für einen gleichartigen Verlauf der alkalischen Zuckerspaltung und der Gärung sprechen. In Verfolg seiner Forschungen über die Zymasewirkung hatte vor allem Buchner in Gemeinschaft mit Meisenheimer[2]) das regelmäßige Auftreten kleiner Mengen Milchsäure mit Sicherheit nachgewiesen. Die Bedeutung dieses Ergebnisses ist zwar von Slator[3]) angefochten worden mit dem Einwande, daß die Milchsäure nicht ein Zwischenprodukt, sondern nur ein Nebenprodukt des Vorganges darstelle. Aber die Be-

---

[1]) v. Lippmann, Chemie der Kohlehydrate, S. 1891; Mörs, Diss.
[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **37**, 417.
[3]) Chem. Centralbl. **1906**, **I**, 383. 1034.

gründung dieses Einwandes erscheint selbst nicht einwandsfrei. Ich werde auf diesen Punkt noch weiter unten zurückkommen. Sehen wir vorläufig einmal von dem Einwande Slators ab, so entspricht der Befund von Buchner und Meisenheimer der Forderung, daß Zwischenprodukte einer Reaktion sich im allgemeinen in der Reaktionsmasse zu kleinen Anteilen auch noch auffinden lassen, weil chemische Reaktionen nicht ganz vollständig zu verlaufen pflegen[1]). Weiter wird die Annahme der Milchsäure als Zwischenprodukt auch durch ältere Angaben unterstützt, die Buchner und Meisenheimer zusammengestellt haben. Als besonders überzeugend seien die Beobachtungen von Duclaux[2]) angeführt. Dieser französische Biologe zeigte, daß ohne Vermittlung von Enzymen, allerdings unter Mitwirkung direkten Sonnenlichts, der Traubenzucker unter einander sehr nahestehenden Versuchsbedingungen entweder in Milchsäure oder zu einem kleinen Teil auch in Alkohol und Kohlensäure zerfallen kann. Das erstere wurde in Gegenwart von Baryt, das zweite bei Gegenwart von Kali beobachtet.

Daß die Milchsäure nicht unmittelbar aus dem Zucker entsteht und auch nicht unmittelbar aus dem Glycerinaldehyd, sondern daß gerade ein Zwischenprodukt, wie das Methylglyoxal, das kein asymmetrisches Kohlenstoffatom besitzt, dazwischen liegen muß, das zeigt die auch von Buchner und Meisenheimer[3]) betonte Erfahrung, daß aus dem aktiven Zucker durch Alkalien stets, und, soweit nicht besondere Umstände vorliegen, auch durch Enzyme inaktive Milchsäure entsteht.

---

[1]) Diesem Standpunkt entsprechend hat Löb versucht, den Glycerinaldehyd mittels der Phloroglucinreaktion von Wohl und Neuberg in Gärungsflüssigkeiten nachzuweisen, ohne zu einem positiven Ergebnis zu gelangen. Aber es ist natürlich nicht gesagt, daß, wenn die sehr beständige Milchsäure in kleinen Mengen unverändert erhalten bleibt, auch die sehr viel labileren Aldehyde, die der Umwandlung in Milchsäure entgehen, als solche noch in der Reaktionsmasse auffindbar sein werden. Etwa erhalten gebliebene Reste des Glycerinaldehyds und Methylglyoxals werden vielmehr, da sie noch leichter kondensiert werden als die höheren Zucker, im wesentlichen der Reversion unterliegen und demnach in den Dextrinen zu suchen sind, die bei der Hefegärung als Nebenprodukt entstehen. Ich bin beschäftigt, dies durch Spaltung solcher Dextrinen und die Untersuchung der Osazone zu prüfen.

[2]) Ann. de l'Instit. Nat. Agron. **10**, 1866.

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **38**, 620.

Bei dem Zusammentreffen so vieler zueinander gut stimmender Erfahrungen in derselben Gedankenrichtung lag es nahe, daß auch andere auf diesem Gebiete tätige Forscher[1]) zu gleichen oder sehr ähnlichen Auffassungen gelangt sind bzw. sich der oben wiedergegebenen Gärungsgleichung ausdrücklich angeschlossen haben, so vor allem Buchner und Meisenheimer[2]). Aber der so wohlbegründet erscheinende Aufbau schien ganz in sich zusammen zu fallen, als vor kaum Jahresfrist Schade[3]) angab, es sei ihm gelungen, die Gärung des Zuckers experimentell auf die Umsetzung in Äthylaldehyd und Ameisensäure und die gegenseitige Oxydation und Reduktion der beiden Spaltungsprodukte zurückzuführen. Die Wiederholung dieser Versuche, die unter Buchners Leitung von Schade in Gemeinschaft mit Meisenheimer[4]) durchgeführt wurde, zeigte aber sehr bald, daß die interessanten Vorgänge, die Schade beobachtet hatte, zu der Gärung sicherlich in keiner Beziehung stehen und deshalb hier für die weitere Erörterung ausgeschaltet werden können.

Ein wesentlicher Einwand aber kann zurzeit noch gegen die Richtigkeit des angegebenen Gärungsverlaufs erhoben werden. Es lag nahe anzunehmen, daß, wenn Glycerinaldehyd oder Methylglyoxal oder Milchsäure die wirklichen Zwischenprodukte

---

[1]) Nef, Liebigs Ann. **335**, 254, 279; Erlenmeyer jun., Journ. f. prakt. Chemie **71**, 384; Knoop u. Windaus, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **38**, 1167; A. Löb (Landwirtsch. Jahrb. **35**, 541) nahm vom Glycerinaldehyd aus einem anderen Verlauf an, nämlich eine Spaltung des letzteren in Glycolaldehyd und Formaldehyd, die sich gegenseitig durch Oxydation und Reduktion in Kohlensäure und Alkohol umsetzen sollen. Ganz neuerdings hat er diese nicht ausreichend begründete Voraussetzung fallen lassen (Chem.-Zeitg. **42**, 540) und vermutet nun eine Aufspaltung des Zuckermoleküls zu Kohlenoxyd und Wasserstoff, die als reaktionsfähige Reste nach der Gleichung $6\,(CO + H_2) = 2\,CH_3 - CH_2OH + 2\,CO_2$ reagieren sollen. Abgesehen von der geringen Wahrscheinlichkeit eines solchen Vorganges müßten in diesem Falle doch Reste von Kohlenoxyd und Wasserstoff in den Gärungsgasen vorhanden sein. Das ist aber nicht der Fall. Vor einiger Zeit habe ich in Gemeinschaft mit Dr. Glimm mehrere Kilo Zucker vergären lassen und die Gärungsgase untersucht, um die Vermutung zu prüfen, daß durch weitere Zertrümmerung des Alkohols etwas Äthylen entsteht. Es zeigte sich aber, daß das Gas von Kali vollständig absorbiert wurde.

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **38**, 621; **39**, 3202.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **57**, 1.

[4]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **30**, 4217.

der alkoholischen Gärung darstellen, alle drei oder wenigstens eins derselben unter den Bedingungen, unter denen der Zucker in Alkohol und Kohlensäure zerfällt, auch selbst der Gärung unterliegen müßten. Dieses Experiment ist aber bisher in keinem Falle gelungen.

Schon bei der Auffindung des Glycerinaldehyds hatte ich festgestellt[1]), daß derselbe nicht gärungsfähig ist, und das ist später von Emmerling[2]) bestätigt worden. Auch von der Unvergärbarkeit des Methylglyoxals, das nach der Ozonmethode von Harries zugänglich ist, hatte ich mich überzeugt, ohne darüber besonders berichtet zu haben. Derselbe Versuch ist von Buchner[3]) und auch von P. Mayer[4]) mit gleichem negativen Erfolge angestellt worden. Endlich hat Slator[5]) den Gedanken geprüft, ob Milchsäure, die gärenden Zuckerlösungen zugesetzt wird, mit vergärt, und ist zu dem gegenteiligen Ergebnis gelangt. Darauf gründete sich der oben erwähnte Einwand gegen die Annahme dieser Säure als Zwischenprodukt.

Aus diesen Befunden könnte geschlossen werden, daß vielleicht eine ganz andere zurzeit nicht bekannte oder nicht berücksichtigte Substanz das wirkliche Zwischenprodukt darstellt, und bei den gleichen Experimenten ein positives Ergebnis liefern würde. Dieser Schluß entspräche der zurzeit ziemlich allgemein als selbstverständlich betrachteten Voraussetzung, daß eine Substanz nur dann als Zwischenprodukt einer Reaktion angesehen werden kann, wenn sich an ihr unter den Bedingungen dieser Reaktion der Endvorgang nachweisen läßt. Es scheint mir aber wichtig darauf hinzuweisen, daß die allgemeine Gültigkeit dieser Voraussetzung keineswegs feststeht.

Man ist im allgemeinen gewohnt, sich eine besondere Wirkung des naszenten Zustandes eigentlich nur bei der Wirkung von Elementen vorzustellen, indem man hier diesen Zustand mit dem Auftreten freier Atome vor ihrem Zusammenschluß zu Molekeln

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **31**, 1800.

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **32**, 544; dem Befunde Emmerlings widersprechende Angaben von Bertrand (Ann. chim. phys. [8] 3, 181) beziehen sich nur auf Dioxyaceton, nicht auf Glycerinaldehyd

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **39**, 3202.

[4]) Diese Zeitschr. **2**, 435.

[5]) Chem. Centralbl. **1906**, I, 383, 1034.

identifiziert. Man kann jedoch noch zu einer zweiten Auffassung besonderer Wirkung naszierender Stoffe gegenüber den fertig gebildeten gelangen, wenn man die Wirkung der auftretenden Reaktionsenergie mitberücksichtigt.[1])

Da bei langsam verlaufenden Vorgängen nicht alle Molekeln zugleich reagieren können, und da die Ableitung der Reaktionsenergie, d. i. die Verteilung der Wärmetönung, die an den reagierenden Molekeln auftritt, auf das ganze Medium Zeit erfordert, so ist unzweifelhaft, daß die reagierenden Moleküle und ihre unmittelbaren Umsetzungsprodukte für sehr kurze Zeit, nämlich bis die Fortleitung der Reaktionswärme erfolgt ist, in einem Zustande sind, der einer höheren Temperatur entspricht, als sie sonst Molekeln bei der vom Thermometer angezeigten Temperatur erreichen.

Die Tatsache, daß chemische Reaktionen nicht momentan verlaufen, wird gewöhnlich mit Hilfe des Maxwellschen Verteilungssatzes so erklärt, daß nur die Molekeln mit höchster Geschwindigkeit reagieren. Von dieser kinetischen Vorstellung über die Ursache, weshalb einzelne Molekeln reagieren, ist die eben vorgetragene Überlegung nicht abhängig. Dieselbe ruht vielmehr nur auf der empirischen Notwendigkeit, daß, wenn im Raum Wärme entwickelt wird, aber nicht an allen Raumpunkten zugleich, dem Zustand der gleichmäßigen Verteilung der Wärmeenergie auf den Raum ein Zustand ungleichmäßiger Verteilung vorausgegangen sein muß. Legt man molekulare Vorstellung und den Maxwellschen Verteilungssatz zugrunde, so gewinnt die Überlegung die Form, daß, indem die schnellsten Molekeln

---

[1]) Das ist natürlich schon öfter in Erwägung gezogen worden. Baeyer hat (Lieb. Ann. **269**, 180) die Abspaltung der Kohlensäure bei der Oxydation hydrierter Phthalsäuren auf die starken Schwingungen zurückgeführt, die die Ablösung der Wasserstoffatome vom Kohlenstoff hervorrufen. Heller hat eine ausführliche Erörterung über „Molekularschwingungen" veröffentlicht (Lieb. Ann. **332**, 286 ff.), dabei auch die Veränderung berücksichtigt, die diese Molekularschwingungen durch die Reaktionsenergie erleiden können und darauf die größere Reaktionsfähigkeit von Atomen und Radikalen beim sog. Status nascens wie die Unbeständigkeit von Zwischenprodukten bei manchen Reaktionen zurückgeführt. Die einfache Beziehung der Reaktionsenergie zur Temperatur, die oben dargelegt ist und meines Erachtens weitere besondere Voraussetzungen unnötig macht, scheint bisher nicht in Betracht gezogen zu sein.

reagieren, diese durch Aufnahme der frei werdenden Reaktionsenergie noch weiteren Geschwindigkeitszuwachs erhalten und so im reagierenden Medium vorübergehend höhere Geschwindigkeiten auftreten, als im nicht reagierenden Medium durch normale Verteilung um die Mitteltemperatur erreichbar sind.

Man kann also ein System, das bei bestimmter Temperatur im Gleichgewicht ist, nicht ohne weiteres mit demselben System identifizieren, in dem bei dieser Temperatur eine Reaktion vor sich geht, in welchem also, indem es isotherm erhalten wird, ein Wärmestrom nach außen fließt. Zur vollständigen thermischen Beschreibung des letzteren Zustandes gehörte außer der Kenntnis der äußeren Reaktionstemperatur der Begriff einer inneren maximalen Reaktionstemperatur der Begriff der lokalen Überhitzung der reagierenden Moleküle. Man gewinnt ein ungefähres Bild von der Größenordnung der Temperaturdifferenzen, die in maximo möglich sind, wenn man die Reaktionswärmen in Rechnung zieht. Die Bildung von zwei Molekülen Milchsäure aus einem Molekül Traubenzucker ist mit der Entwicklung von ca. 35 Cal. verknüpft. Nimmt man mit Rücksicht auf die Steigerung mit der Temperatur die spez. Wärme zu 0,7 an[1]), so ergibt die Entwicklung von 35 Cal. auf 180 g Substanz entsprechend $180 \times 0{,}7 = 126$ g Wasserwert $\frac{35\,000}{126} =$ ca. 280°.

Diese vorübergehende lokale Überhitzung erscheint nun als Ursache, daß naszente Zwischenprodukte Umsetzungen erleiden können, die die isolierten Zwischenprodukte sonst nur bei höherer Temperatur oder allgemein unter anderen Bedingungen zeigen, und damit fällt natürlich die Voraussetzung, von der aus die negativ verlaufenen Gärversuche mit Milchsäure usw. als Gründe gegen ihre Annahme als Zwischenstufen geltend gemacht werden konnte.

Die Energiegleichung der Gärung (Alkohol gelöst, Kohlensäure gasförmig) liefert bekanntlich eine Wärmeentwicklung von 33 Cal. Für den Zerfall des Zuckers in 2 Moleküle Milchsäure berechnet sich, wie eben schon erwähnt wurde, aus der Bildungswärme der flüssigen Milchsäure (167 · 4), eine Wärmeentwicklung

[1]) Die spez. Wärmen der niederen Alkohole, Säuren, Glycerin usw. liegen für mittlere Temperatur zwischen 0,5 und 0,6.

+ 34,8 Cal.; dazu kommt noch die bisher nicht gemessene Lösungswärme der Milchsäure. Die Milchsäurebildung stellt also als primärer Vorgang die Gesamtquelle der frei werdenden Energie dar, und bei dem Zerfall in Alkohol und Kohlensäure, als Wirkung der molekularen Überhitzung im naszierenden Zustande, muß sogar noch ein kleiner Anteil der Reaktionsenergie wieder absorbiert werden.

Die Berücksichtigung der Reaktionswärme führt auch darauf für die Ursache der Beschleunigung der Reaktion durch kolloidale Katalysatoren und insbesondere durch die Fermente eine Überlegung heranzuziehen, die bisher, wie es scheint, nicht berücksichtigt worden ist. Die Erklärung katalytischer Wirkungen durch Zwischenreaktionen mit dem Katalysator erscheinen gerade bei den kolloidalen Katalysatoren nicht erschöpfend. Nun ergibt sich aus den eben gegebenen Darlegungen, daß einer Verlangsamung der Wärmeableitung einer Verlängerung der Dauer der molekularen Überhitzung, eine Beschleunigung der Wärmeableitung einer Verkürzung entspricht, und wenn dem so ist, dann muß die Gegenwart kolloidaler Wände an deren Oberfläche der katalytisch beeinflußte Vorgang verläuft, durch die Modifikation der Energieverteilung wirken, und so eine Änderung des Reaktionswiderstandes und damit der Reaktionsgeschwindigkeiten herbeiführen können. Wenn die vorgetragene Auffassung sich bestätigen sollte, würde sie natürlich immer nur e i n e n der Gründe für die Wirkung kolloidaler Katalysatoren darstellen. Die auswählende Wirkung der Enzyme läßt ja keinen Zweifel, daß mit einer solchen Einwirkung auf die Wärmeverteilung das Wesen der katalytischen Wirkung nicht erschöpft wird, daß für die Einleitung des Vorganges die Zwischenreaktionskatalyse als Erklärung nicht zu umgehen ist. Aber der angeführte Grund dürfte, wie hier nicht weiter verfolgt werden kann, eine Lücke ausfüllen und sich dem Gesamtbilde ergänzend einfügen.

Daß bei der Gärung die Konzentration der Reaktionsenergie in diesem Sinne eine Rolle spielt, dafür spricht, daß es sehr leicht gelingt, mittels rein chemischer nicht kolloidaler Katalysatoren den ersten Teil der Zuckerspaltung, der unter Wärmeabgabe verläuft, die Spaltung bis zur Milchsäure durchzuführen, während der zweite unter Wärmeaufnahme erfolgende Vorgang die Spaltung in Alkohol und Kohlensäure bisher überhaupt nur unter

der Einwirkung des Sonnenlichts, einer äußeren Energiequelle, oder kolloidaler Enzyme gelungen ist. Von diesem Gesichtspunkt aus gewinnt auch die Aufklärung der Fuselölbildung durch Ehrlich noch ein weiteres Interesse. Sie zeigt, daß die Hefe jedenfalls naszierende Oxysäuren, die durch Abspaltung des Ammoniaks entstanden sind, hydrolytisch in Kohlensäuren und den dazu gehörigen Alkohol zu spalten vermag, wenn sie auch gegen die fertige Milchsäure nach Slator unter den gleichen Bedingungen unwirksam ist.[1])

Das Ergebnis, zu dem wir so bezüglich der Spaltung der Milchsäure in Alkohol und Kohlensäure gelangt sind, ist für den experimentellen Chemiker wenig befriedigend, denn es vermehrt nicht die Hilfsmittel, durch die wir das Gebiet des Möglichen von der Wirklichkeit experimentell zu scheiden suchen, sondern es scheint geeignet, ein solches häufig gebrauchtes Hilfsmittel auszuschalten. Aber das darf nicht hindern, den zugrunde liegenden Gedanken zur Erörterung zu stellen[2]). Wird doch auch in anderen als

---

[1]) In diesem Falle stammt die Reaktionsenergie nicht aus der Ammoniakabspaltung als primärem Vorgange, da die Umwandlung von Alanin in milchsaures Ammoniak keinen Wärmeüberschuß ergibt. Vielmehr ist hier die Energiequelle in der molekularen Kupplung mit exothermen Vorgängen zu suchen, die vielleicht mit der biologischen Verwendung des abgespaltenen Ammoniaks zusammenhängen. Jedenfalls ist die Möglichkeit der Reaktion an eine fremde Energiequelle geknüpft und es erscheint deshalb wohl verständlich, daß die Zymase außerhalb der Zelle, wie Buchner und Meisenheimer feststellten, in dieser Richtung nicht wirksam ist.

[2]) Ähnliche Wirkungen, wie sie der naszente Zustand exothermisch entstehender Verbindungen bedingt, werden bekanntlich auch unter dem Einfluß des Lichtes, der dunklen elektrischen Entladungen wie in der heißkalten Röhre von Berthelot beobachtet. In Übereinstimmung mit dem oben wiedergegebenen Gedankengange handelt es sich dabei auch immer um Bedingungen, die vorübergehend hohe lokale Temperaturdifferenzen herbeiführen. Bei der heißkalten Röhre tritt diese Beziehung ohne weiteres hervor, für die Wirkung des Lichts und der dunklen Entladungen folgt sie aus der Überlegung, daß die Schwingungen der strahlenden Energie je nach der gegebenen Resonanzmöglichkeit von den verschiedenen Molekeln eines Gemenges in verschiedenem Maße absorbiert werden. Ein andere Erklärungen ausschließender Beweis für die Rolle der molekularen Überhitzung wäre die Auffindung eines Vorganges, der bei bestimmter Temperatur über ein bekanntes Zwischenprodukt verläuft, während das zuvor isolierte Zwischenprodukt im gleichen Reaktionsmedium erst bei höherer Temperatur die gleiche Endumsetzung erleidet. Einen solchen

ungenügend aufgeklärt geltenden Fällen, z. B. für die Umwandlung der Maleinsäure in Fumarsäure[1]) durch die eben erwähnte Überlegung eine anschauliche Vorstellung gewonnen.

Wenn wir also wohl auch darauf verzichten müssen, die Annahme einer Substanz als Zwischenprodukt von der Ausführbarkeit des Endvorganges bei gleicher Temperatur abhängig zu machen, so bleibt doch als experimentell erfüllbare Forderung der Nachweis von Resten der als Zwischenprodukte geltenden Substanzen oder erkennbarer Umwandlungsprodukte derselben in der Reaktionsmasse. Man wird nicht von vornherein behaupten können, daß dieser Nachweis in allen Fällen gelingen muß, aber die bisherige Erfahrung spricht doch mit großer Wahrscheinlichkeit dafür, daß derselbe im allgemeinen möglich ist, und in diesem Sinne sind die hier erörterten Fragen weiter zu prüfen.

Vorgang glaubte ich in dem Zerfall der Oxalessiganilsäure in Kohlensäure und Brenztraubensäureanilid gefunden zu haben; die weitere Untersuchung hat aber diese Auffassung wieder unsicher gemacht. (Ber. d. deutsch. chem. Ges. **40**, 2291.) Auch die von Heller (Lieb. Ann. **332**, 297 ff.) angeführten Vorgänge können hier nicht als Beweismittel dienen, da der Verlauf über bestimmte Zwischenprodukte nicht sichergestellt ist noch Versuche damit im gleichen Reaktionsmedium vorliegen.

Es wurde auch versucht, ob das Eintreten einer stark exothermischen Reaktion Vorgänge in derselben Lösung beeinflussen kann. Einen ähnlichen Versuch bei der Umlagerung des Isostilbens hat bereits Strauß (Liebigs Ann. **342**, 212) mit negativem Ergebnis ausgeführt. Ich habe mich davon überzeugt, daß die Umwandlung von Maleinsäure in Fumarsäure durch Jodwasserstoff nicht mehr, sondern sogar weniger Fumarsäure liefert, wenn sie bei Gegenwart von viel Apfelsäure verläuft.

Im Sinne des oben entwickelten Gedankenganges würde daraus folgen, daß die molekulare Überhitzung nur an den reagierenden Molekülen selbst wirkt und bei Fortleitung auf die nächste Umgebung bereits unmerklich wird, in Übereinstimmung mit der Erfahrung, daß nur bei unmittelbarer molekularer Kupplung der Energieüberschuß exotherme Reaktionen begleitende endotherme Vorgänge ermöglicht. Für eine strengere Betrachtung ist dabei natürlich endotherm und exotherm im Sinne einer Zu- bzw. Abnahme der freien Energie aufzufassen.

[1]) Die Addition von Wasser an Maleinsäure ist, wie ich mit Claußner feststellte, ein exothermer Vorgang; die unter Wärmeentwicklung entstehende Apfelsäure kann somit in Fumarsäure und Wasser zerfallen, obwohl fertige Apfelsäure bei gleicher äußerer Temperatur beständig ist.

Zur Frage der Beziehungen der Toxine zu den Zellenelementen des Organismus.

Von

Dr. G. Belonowski.

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 27. Juni 1907.)

Seit langem weiß man, daß zwischen der Einführung eines Toxins in den Organismus und der Wirkung desselben eine gewisse Zeit vergehen kann, und zwar selbst dann, wenn das Gift unmittelbar in das Blut eingeführt worden ist. Dieses Latenzstadium ist für verschiedene Gifte vollkommen verschieden. Das Cobragift wirkt beispielsweise fast augenblicklich, das Diphtherietoxin erst nach vielen Stunden, sogar einigen Tagen, das Diphtherietoxon nach Wochen.

Durch entsprechende Untersuchungen wurde erwiesen, daß dem Auftreten der toxischen Wirkung gewöhnlich ein rasches Verschwinden des eingeführten Giftes aus dem Blute vorangeht. So führte Heymans (1) Kaninchen in die Vene Tetanus- und Diphtherietoxin in der minimalen tötlichen Dosis ein. Hierauf entnahm er in verschiedenen Zeitabständen den Versuchstieren so viel Blut als möglich aus der Vene und ersetzte dasselbe durch die gleiche Quantität frischen defibrinierten Blutes. Auf diese Weise wurde mit dem Blute auch ein großer Teil des in den Organismus eingeführten Giftes entfernt, und da die Giftdosen minimal waren, so konnte man erwarten, daß die Versuchskaninchen nicht zugrunde gehen würden. In Wirklichkeit aber gingen die Tiere unter typischen Intoxikationserscheinungen selbst dann zugrunde, wenn die Entnahme des Blutes und der Ersatz desselben durch frisches defibriniertes Blut schon ½ Minute nach der Injektion des Toxins geschahen. Augenscheinlich ist

hier das Gift aus dem Blute bereits nach einer halben Minute verschwunden und von den Zellen des Organismus absorbiert worden.

Analoge Beobachtungen bei der Anwendung von anderen Untersuchungsmethoden haben Bomstein (2), Crolly (3) und Brunner (4) in bezug auf Diphtherietoxin und Dönitz (5) in bezug auf Tetanustoxin und Diphtherietoxin gemacht. Padoa (6) und Lapicque (7) injizierten Tieren in die Mesenterialvene eine geringe Quantität Diphtherietoxins, ohne dasselbe hierauf in dem aus der V. hepatica abfließenden Blute finden zu können[1]). Das Gift verschwindet nicht nur aus dem Blute, sondern läßt sich in der Regel nicht einmal in den Sekreten, beispielsweise im Harn, nachweisen [Goldberg (8)]; im Harn kann man das Gift nur dann nachweisen, wenn die Quantität des eingeführten Toxins eine sehr bedeutende war (Brunner).

Ganz anders gestaltet sich das Schicksal der Toxine in den Organismen, welche für diese unempfindlich sind. So fand Metschnikoff (9), daß die Schildkröte, welche für das Tetanustoxin unempfindlich ist, dieses Toxin monatelang in ihrem Blute behalten kann. Ebenso unverändert bleibt das Gift auch in der Leber von Skorpionen. Gleiche Beobachtungen haben Fermi und Pernossi (10) an Schlangen, Tritonen und Turteltauben gemacht. Hierher gehört auch eine Beobachtung von Asakawa (11), der gefunden hat, daß das Gehirn des Huhnes, welches bekanntlich für Tetanus wenig empfindlich ist, nur eine geringe Bindung des Tetanustoxins zustande bringt.

Diese Erscheinungen sind unserem Verständnis seit jener Zeit näher gerückt, als Ehrlich seine Seitenkettentheorie geschaffen hat, wonach die Wirkung der Gifte darin besteht, daß sie von den mit ihnen chemisch verwandten Receptoren der Zellen gebunden werden. Das Fehlen solcher empfindlichen Receptoren, folglich das Ausbleiben jener Bindung, ist die Ursache der Unwirksamkeit des Toxins bei unempfindlichen Tieren.

Als eine Bestätigung dieser Auffassung Ehrlichs durch das direkte Experiment ist wohl der bekannte Versuch von Wassermann und Takaki anzusehen, welche die Bindung des Tetanus-

---

[1]) Nencki, Charrin und Cussin u. a. haben diese Beobachtungen nicht bestätigen können.

giftes durch die Zellen des Zentralnervensystems in vitro demonstrierten. In demselben Sinne sind die vielfach bestätigten Ergebnisse Ehrlichs und Morgenroths über die Bindung der hämolytischen Amboceptoren durch empfindliche Blutkörperchen anzusehen.

Systematische Versuche in dieser Richtung, welche sich auf die verschiedenartigen Zellen des Organismus beziehen, sind noch kaum durchgeführt. Gerade bei der theoretischen Bedeutung der Bindungsphänomene erschienen sie von Wichtigkeit, und ich habe dieselben deshalb auf Anregung von Prof. Morgenroth mit dem für diese Studien besonders geeignet erscheinenden Gift der Kreuzspinne, dem von Sachs sogenannten Arachnolysin, durchgeführt.

I.

Das Arachnolysin, welches zum erstenmal von Kobert (12) und Sachs (13) erforscht wurde, besitzt gegenüber dem Blute mancher Tiere eine hämolytische Wirkung.

Das Gift, dessen ich mich bei meinen Experimenten bediente, war ein nach den Angaben von Sachs aus Kreuzspinnen mittels 10prozentiger Kochsalzlösung gewonnener Extrakt[1]).

Ich bediente mich der bei hämolytischen Experimenten üblichen Methodik[2]). In Reagensgläschen wurden verschiedene abgemessene Giftquantitäten gefüllt, hierauf physiologische Kochsalzlösung zum Ausgleich des Flüssigkeitsvolums zugefügt und dann in jedes Reagensgläschen je 1 ccm 5prozentiger Aufschwemmung der gewaschenen Blutkörperchen abgemessen. Sämtliche Reagensgläschen wurden hierauf zunächst für die Dauer von 2 Stunden in den Brutschrank bei 37°, dann bis zum folgenden Morgen in den Eisschrank gebracht.

Die Resultate der vergleichenden Untersuchung verschiedener Blutarten sind in der umstehenden Tabelle I zusammengestellt.

Ich konnte zunächst die Angaben von Sachs über die vollkommene Unempfindlichkeit des Meerschweinchen- und Hundeblutes bestätigen; selbst die 100fache Menge der zur kompletten

---

[1]) Das Material habe ich von Herrn Dr. Sachs erhalten, dem ich an dieser Stelle meinen besten Dank sage.

[2]) Siehe Morgenroth: „Methodik der Hämolysinuntersuchung“. Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung, herausgegeben von Prof. Ehrlich, 1904, 461.

Tabelle I.

Konzentraten der Arachnolysinlösung	Quantität der Arachnolysinlösung	Arachnolysingehalt der Lösung	Blut				
			Kaninchen	Affe	Ochs	Ratte	Huhn
1 : 10	1,0	0,1	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
	0,5	0,05	"	"	"	"	"
	0,25	0,025	"	"	"	"	"
1 : 100	1,0	0,01	"	"	"	"	"
	0,5	0,005	"	"	"	"	"
	0,25	0,0025	"	"	"	"	"
1 : 1000	1,0	0,001	"	"	fast kompl.	fast kompl.	mäßig
	0,5	0,0005	stark	wenig	Spuren	Spuren	wenig
	0,25	0,00025	mäßig	0	0	"	Spuren
1 : 10000	1,0	0,0001	wenig	0	0	"	"
	0,5	0,00005	Spuren	0	0	0	0
	0,25	0,000025	fast 0	0	0	0	0
Kontrolle	0	0	0	0	0	0	0

Lösung von Kaninchenblut ausreichenden Arachnolysinmenge bringt keinerlei makroskopisch sichtbare Veränderung an Hunde- oder Meerschweinchenblut hervor. Es erscheint von Interesse, daß bei zwei nahestehenden Vogelarten sich dasselbe Verhalten findet wie bei Kaninchen- und Meerschweinchenblut. Während das Hühnerblut einen hohen Grad von Empfindlichkeit dem Arachnolysin gegenüber besitzt, wird das Taubenblut in keiner Weise beeinflußt. Besonders bemerkenswert ist der analoge Unterschied bei dem Blut zweier so sehr nahestehender Spezies, wie Ziege und Schaf. Das Blut des Frosches fand ich gleichfalls unempfindlich. Der Grad der Empfindlichkeit der übrigen untersuchten Blutarten ist aus der Tabelle ohne weiteres zu ersehen.

Eine besondere Aufmerksamkeit verdient noch der Verlauf der Hämolyse in den einzelnen Reihen der Tabelle. Während beispielsweise beim Ochsenblut die Hämolyse bei Verminderung der Arachnolysinmenge eine fast jähe Unterbrechung erfährt, bemerkt man beim Kaninchenblute über die Grenzen der kompletten und fast kompletten Hämolyse hinaus bei weiterer Verdünnung des Arachnolysins eine ganz allmähliche Verminderung der hämolytischen Reaktion.

Tabelle I.

Blut							
Ziege	Maus	Mensch	Meerschweinchen	Hammel	Taube	Frosch	Hund
komplett	komplett	komplett	0	0	0	0	0
"	"	"	0	0	0	0	0
"	"	"	0	0	0	0	0
"	"	f. kompl. stark	0	0	0	0	0
"	fast komplett	stark	0	0	0	0	0
fast komplett	"	"	0	0	0	0	0
Spuren	stark	mäßig	0	0	0	0	0
0	mäßig	wenig Spuren	0	0	0	0	0
0	Spuren	Spuren	0	0	0	0	0
0	0	"	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0

Dies ist offenbar so zu deuten, daß bei gewissen Blutarten fast sämtliche Blutkörperchen den gleichen Grad der Empfindlichkeit dem Gift gegenüber besitzen, während bei anderen weitgehende Differenzen in dieser Hinsicht bestehen. Auf derartige Unterschiede hat bereits Sachs in seiner später zu erwähnenden interessanten Studie über die Giftempfindlichkeit des Blutes in verschiedenen Lebensaltern aufmerksam gemacht.

Ferner wurde ein bedeutender Unterschied in der Schnelligkeit des Eintrittes der Reaktion beobachtet. Kaninchenblut beginnt mit größeren Arachnolysinmengen fast augenblicklich sich zu lösen. Ziegenblut, welches fast im selben Maße der Hämolyse verfällt, löst sich weit langsamer, in 10—15 Minuten und noch länger. Bei verschiedenen Tieren ein und derselben Art konnte man bisweilen individuelle, übrigens unbedeutende, Schwankungen wahrnehmen. Außerdem habe ich ebenso wie Sachs (14) die Beobachtung gemacht, daß das Blut neugeborener Kaninchen der hämolytischen Wirkung des Giftes gegenüber widerstandsfähiger ist, als das Blut von erwachsenen Kaninchen (siehe Tabelle II).

Tabelle II.

Quantität der 1 proz. Arachnolysinlösung	Blut von neugeborenen Kaninchen	Blut von erwachsenen Kaninchen
1,0	fast komplett	komplett
0,5	"	"
0,25	"	"
0,1	stark	fast komplett
0,05	"	stark
0,025	mäßig	wenig
0,01	Spuren	Spuren
0,005	0	0
0	0	0

Die Unempfindlichkeit bezieht sich offenbar nur auf einen Teil der Blutkörperchen, da auch bei großen Giftmengen eine komplette Lösung nicht erzielt wird.

Wenn man unter dem Mikroskop die Wirkung des Arachnolysins auf das Blut beobachtet, kann man sehen, daß die unempfindlichen Blutkörperchen (Hammelblut) eine gewisse Zeit unverändert bleiben; dann treten aus denselben viele kleine runde Körperchen heraus, während die Blutkörperchen selbst anscheinend ihre Form behalten. Handelt es sich aber um empfindliches, z. B. Kaninchenblut, so beobachtet man bei Einwirkung des Giftes auf dasselbe unter dem Mikroskop ein anderes Bild: der eine Teil der Blutkörperchen löst sich, schmilzt gleichsam, so daß man nur mit Mühe ihre blassen, runden Stromata sehen kann; der andere Teil löst sich sehr langsam, wobei die Form der Blutkörperchen sich hochgradig verändert: sie nehmen die mannigfaltigsten Formen an, gleichen Poikilocyten oder beweglichen Leukocyten. Schließlich bleibt stets ein gewisser, sehr geringer Teil der Blutkörperchen ohne jede sichtbare Veränderung.

II.

Wodurch wird nun der oben erwähnte Zusammenhang zwischen dem in Rede stehenden Gifte und den Blutkörperchen bedingt?

Ehrlich und Morgenroth haben ein Grundgesetz aufgestellt, welches sie von ihren Beobachtungen über die Wechsel-

beziehungen zwischen künstlich gewonnenen hämolytischen Serumarten und Blut abgeleitet haben. Nach diesem Gesetz kommt die Hämolyse dadurch zustande, daß die empfindlichen Blutkörperchen dem Hämolysin chemisch nahestehende Receptoren haben, welche mit den Amboceptoren, d. h. mit den durch die Immunisation künstlich erzeugten Substanzen eine Verbindung eingehen. Das Nichteintreten von Hämolyse wird dadurch erklärt, daß die betreffenden Blutkörperchen die erforderlichen Receptoren nicht besitzen. Dieser Einwirkung liegt somit nach dieser Ansicht die Bindung der hämolytisch wirkenden Substanz durch die Blutkörperchen zugrunde. Es ist diese Ansicht ein Spezialfall des allgemeinen Prinzips der Ehrlichschen Seitenkettentheorie. „Ist die Voraussetzung und die Ursache der Giftwirkung in allen diesen Fällen die Anwesenheit von geeigneten, an den Blutscheiben befindlichen Receptoren (Seitenketten), welche in die haptophoren Gruppen des Toxins eingreifen; umgekehrt besteht also zwischen der natürlichen Immunität und dem Receptorenmangel der innigste Zusammenhang“ (Ehrlich).

Sachs (l. c.) fand, daß die Wirkung des Arachnolysins auf das Blut der Tiere gleichfalls der oben erwähnten Regel mit einer Regelmäßigkeit, die nichts mehr zu wünschen übrig läßt, entspricht. Wenn man das Stroma der Blutkörperchen mit dem Arachnolysin in Berührung bringt, so nimmt das Stroma der empfindlichen Blutkörperchen das Arachnolysin aus der Lösung auf, „bindet“ es, während das Stroma der unempfindlichen Blutkörperchen das Arachnolysin unverändert läßt. Ganz analoge Resultate erhielt Jacoby (15) bei entsprechenden Versuchen mit Crotin.

Zur Gewinnung von Stromata empfiehlt Sachs folgende Methode: Das zur Verwendung kommende Blut wird im Wasserbade bei 50—60° (je nach Blutart, Ochsenblut bei 60°, Kaninchen- und Meerschweinchenblut bei etwa 54°) eine halbe Stunde lang erhitzt, bis bei dunkel rotbrauner Farbe eben das Lackfarbigwerden beginnt. Die nun durch Wasser auf das 6—10fache Volumen gebrachte und geschüttelte Blutlösung wird nach Zusatz von so viel Kochsalz, daß der Gesamtgehalt 1% beträgt, scharf zentrifugiert. Die Stromata sitzen jetzt am Boden des Gefäßes als gelblichweiße Masse und können durch Zusatz von 0,85% NaCl-Lösung und wiederholtes Zentrifugieren mehrmals gewaschen werden.

Als ich mit Stromata, die nach der eben beschriebenen Vorschrift von Sachs hergestellt waren, Bindung zu erzielen versuchte, wollte mir der Versuch lange nicht gelingen. Die

Ursache des Mißerfolges lag darin, daß ich glaubte, die Stromata der empfindlichen Blutkörperchen müßten eine Arachnolysinquantität binden, welche derjenigen, die zur Lösung der angewandten Blutquantität erforderlich ist, genau entspricht. Die Erfahrung hat mich aber gelehrt, daß eine derartige Übereinstimmung bei weitem nicht immer beobachtet wird: die gebundene Arachnolysinquantität ist weit geringer, als die Berechnung ergibt.

Vollständige Bindung erzielte ich nur in dem Falle, wenn ich eine Arachnolysinquantität nahm, die achtmal geringer war als die zur vollständigen Auflösung des Blutes erforderliche Quantität (Tabelle IIIa).

Diese Erscheinung könnte man auf die Unvollkommenheit der Methode der Stromatagewinnung zurückführen[1]).

Infolgedessen machte ich auch den Versuch, Stromata nach der Methode von Pascucci (16) zu gewinnen:

Man läßt die Blutscheiben des defibrinierten Blutes sich absetzen, hebert das überstehende Serum ab und versetzt den Blutkörperchenbrei mit dem 15—20fachen Volumen einer $^1/_5$-gesättigten Ammonsulfatlösung. Nach gutem Umrühren läßt man die Blutscheiben sich absetzen, hebert die überstehende Ammonsulfatlösung ab, zentrifugiert anhaltend und gießt die überstehende Flüssigkeit ab. Der Bodensatz wird in ganz dünner Schicht auf flachen Porzellantellern ausgebreitet und bei Zimmertemperatur getrocknet. Die trockene Masse wird in kaltem Wasser verteilt, worin sich der Farbstoff löst, während die Stromata sich am Boden sammeln und bleibt darin längere Zeit (ungefähr 24 Stunden). Dann wird das Waschwasser über dem Bodensatz so oft dekantiert, bis es farblos wird. Zuletzt werden die Stromata auf dem Filter gesammelt und mit destilliertem Wasser sorgfältig ausgewaschen.

Die Aufschwemmung der Stromata wurde mit einer entsprechenden Menge Arachnolysin in Reagensgläsern 45 Minuten in das Wasserbad bei 40° eingesetzt, hierauf wurde zentrifugiert und der Abguß, wie aus der Tabelle III b ersichtlich, mit Kaninchenblut geprüft.

Aber auch auf diese Weise ist es mir, wie aus der Tabelle III b hervorgeht, nicht gelungen, eine vollständige Übereinstimmung zwischen der Bindung des Giftes, der Blutquantität, welche zur Gewinnung von Stromata verwendet wurde, und der zur Lösung

---

[1]) Wenn man nämlich unter dem Mikroskop den durch die oben beschriebene Bearbeitung gewonnenen Brei betrachtet, so kann man neben den Stromata auch andere Gerinnsel sehen.

Tabelle IIIa.

Zu den nach Sachs hergestellten Stromata habe ich verschiedene Arachnolysinmenge hinzugefügt; die Proben wurden 30 Minuten lang bei 40° erwärmt. Mit dem daraus gewonnenen Abguß wurden hämolytische Versuche mit Kaninchenblut angestellt.

Abgußmenge	Stromata nach Sachs											
	Zugesetzt lösende Dosis			Zugesetzt 1/2 lösende Dosis			Zugesetzt 1/4 lösende Dosis			Zugesetzt 1/8 lösende Dosis		
	Ochsen-stromata	Kaninchen-stromata	Kontrolle	Ochsen-stromata	Kaninchen-stromata	Kontrolle	Ochsen-stromata	Kaninchen-stromata	Kontrolle	Ochsen-stromata	Kaninchen-stromata	Kontrolle
2,0	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	0	0	komplett
1,0	"	"	"	"	"	"	fast kompl.	"	"	0	0	fast kompl.
0,5	"	"	"	"	"	"	stark	stark	fast kompl.	0	0	stark
0,25	"	"	"	fast kompl.	fast kompl.	fast kompl.	"	"	stark	0	0	mäßig
0,1	fast kompl.	fast kompl.	fast kompl.	stark	mäßig	stark	mäßig	mäßig	mäßig	0	0	wenig
0,05	stark	stark	stark	mäßig	"	mäßig	wenig	wenig	wenig	0	0	Spuren
0,025	mäßig	mäßig	mäßig	"	wenig	wenig	Spuren	Spuren	Spuren	0	0	0
0,01	Spuren	Spuren	Spuren	0	Spuren	Spuren	0	0	0	0	0	0
0,005	"	"	"	0	Spuren-0	0	0	0	0	0	0	0
0,0025	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

dieses Blutquantums erforderlichen minimalen Arachnolysinquantität festzustellen.

Tabelle IIIb.

Stromata nach Pascucci.

Die verwendete Kaninchenblutquantität betrug 10,0 ccm. Die verwendete Arachnolysinquantität betrug 0,25 ccm einer Lösung 1 : 10.

Die Arachnolysinquantität, welche nach Berechnung zur Auflösung des verwendeten Blutvolums erforderlich war, betrug 2,0 ccm einer Verdünnung 1 : 10.

Quantität der Stromata-Emulsion	Resultat	Kontrollversuch mit entsprechendem Arachnolysingehalt.
1,0	Spuren	komplett
0,5	"	"
0,25	0	"
0,1	0	fast komplett
0,05	0	stark
0,025	0	mäßig
0,01	0	"
0,005	0	"
0,0025	0	0
0	0	0

Ich habe mich somit sowohl bei der einen, wie bei der anderen oben beschriebenen Methode überzeugen können, daß nur ein geringer Teil des Arachnolysins gebunden wird.

Als erfolgreicher für die Stromatagewinnung erwies sich ein Verfahren, welches darin bestand, daß defibriniertes Blut mit Sand verrieben wurde. Nach Absetzen oder Zentrifugieren der Mischung bildet sich oberhalb der Sandschicht eine weißliche Schicht von zerriebenen Blutkörperchenstromata und eine Schicht von gefärbtem Serum. Indem ich die Stromata dekantierte und Fixationsversuche machte, gelang es mir, die Hälfte derjenigen Arachnolysinquantität, welche zur vollständigen Auflösung der verwendeten Blutmenge erforderlich war, zu binden.

Bei den Kontrollexperimenten mit dem Blute von Tieren, welches von Arachnolysin nicht gelöst wird, konnte bei sämtlichen

oben beschriebenen Methoden eine Bindung nicht erzielt werden.

Bei eingehenderem Studium der uns interessierenden Frage zeigte sich nun, daß das Fehlen einer regelmäßigen Wechselbeziehung zwischen der Stromata- und der gebundenen Arachnolysinquantität nicht nur darauf beruht, daß ein Teil der Stromata wegen der Unvollkommenheit der Methoden bei der Bearbeitung verloren geht, sondern, wie aus dem folgenden Versuch zu ersehen ist, darauf, daß die das Arachnolysin bindende Substanz in die umgehende Lösung übergeht und auf diese Weise verloren geht.

5 ccm Kaninchenblut wurden erwärmt, bis das Blut lackfarben wurde und hierauf sorgfältig zentrifugiert. Zum klaren Abguß wurden 0,25 ccm einer 10 prozentigen Arachnolysinlösung hinzugesetzt, die Mischung für die Dauer von 45 Minuten in das Wasserbad bei einer Temperatur von 40° gebracht und hierauf ein hämolytisches Experiment mit 5 prozentiger Kaninchenblutemulsion gemacht. (Tab. IV.)

Tabelle IV.

Abguß-quantität	Resultat	Kontrollversuch
2,0	stark	komplett
1,0	"	"
0,5	mäßig	"
0,25	wenig	"
0,1	0	fast komplett
0,05	0	stark
0,025	0	mäßig
0	0	0

Wir sehen also, daß ein Teil des Arachnolysins auch ohne Stromata von dem Abguß gebunden wurde.

Das Vorhandensein einer regelmäßigen und genauen Wechselbeziehung zwischen der Arachnolysin- und der Blutquantität kann man auch auf einfachere Weise nachweisen. Wenn man eine Arachnolysinquantität, welche das betreffende Blutvolum vollkommen genau löst, nimmt und die Mischung von Gift und Blut nach einem zweistündigen Verweilen im Brutschrank zentrifugiert, so büßt der Abguß das Vermögen ein, eine neue Quantität hinzugesetzten Blutes zu lösen.

Tabelle V.

7,5 ccm gewaschenen Ochsenblutes wurden nebst 1,5 ccm 10prozentiger Arachnolysinlösung 2 Stunden lang im Brutschrank gehalten. Die Mischung, welche lackfarben wurde, wurde zentrifugiert, worauf mit dem Abgusse an Kaninchenblut der hämolytische Versuch angestellt wurde.

Abgußmenge.	Resultat	Kontrollversuch mit Arachnolysin
1,0	0	komplett
0,5	0	"
0,25	0	"
0,1	0	"
0,05	0	stark
usw.	0	mäßig

Anmerkung. Das Experiment gelingt noch deutlicher, wenn man eine 5prozentige Blutemulsion nimmt.

Bei eingehenderer Untersuchung der Bindungsprozesse stellt es sich heraus, daß die Blutkörperchen von Arachnolysin mehr binden, als zu ihrer Auflösung erforderlich ist.

Zu drei Portionen von je 5 ccm 5prozentiger Kaninchenblutemulsion wurden hinzugesetzt: zu der ersten die Minimal-Arachnolysinquantität, welche zur vollständigen Auflösung des Blutes erforderlich ist; zu der zweiten Portion eine zweimal geringere, zu der dritten eine zweimal größere Quantität. Sämtliche Portionen wurden für die Dauer von 50 Minuten in ein Wasserbad bei 40° gebracht. Das Resultat war folgendes:

I. Probe: Lösung komplett (fast komplett);
II. „ „ fast komplett;
III. „ „ komplett.

Da in der III. Probe die Hälfte des zugesetzten Arachnolysins als frei gedacht werden mußte, so hätte man eigentlich annehmen können, daß das Zentrifugat dieselbe hämolytische Kraft besitzen muß wie die I. Probe. Das Resultat war jedoch ein anderes. (Tab. VI.)

Tabelle VI.

In der I. Probe waren 5 ccm 5proz. Kaninchenblutemulsion
+ 0,125 ccm 10proz. Arachnolysinlösung,
„ „ II. „ „ 5 ccm 5proz. Kaninchenblutemulsion
+ 0,0625 ccm 10proz. Arachnolysinlösung,

In der III. Probe waren 5 ccm 5proz. Kaninchenblutemulsion
+ 0,25 ccm 10proz. Arachnolysinlösung.

Abgußmenge	Probe I	Probe II	Probe III	Kontrollversuch (5 ccm Kochsalzlös. + 0,0625 ccm 10% Arachnolysinlös.)
2,0	0	0	fast komplett	komplett
1,0	0	0	stark	"
0,5	0	0	mäßig	fast komplett
0,25	0	0	wenig	stark
0,1	0	0	wenig	wenig
0,05	0	0	Spuren	Spuren
0,025	0	0	0	0
0	0	0	0	0

Aus der Zahlenberechnung geht hervor, daß etwa drei Viertel der Arachnolysinquantität aus der Probe III mit den Blutkörperchen eine Bindung eingegangen ist, daß die Blutkörperchen also vom Arachnolysin mehr als zur Auflösung erforderlich ist, fixieren.

Diese Beobachtung, welche der zuerst von Bordet (17) sowie von Ehrlich und Morgenroth (18) in bezug auf die hämolytischen Sera mitgeteilten analog ist, hat sich auch für viele andere Fälle als zutreffend erwiesen. In bezug auf Bakterien und Amboceptoren ist diese Beobachtung zum erstenmal von Pfeiffer und Friedberger (19) gemacht worden.

Das Vorhandensein von Arachnolysin nach Bindung desselben durch die Stromata der Blutkörperchen habe ich weder durch andauerndes Macerieren der letzteren in Salzlösungen, noch durch Verreibung und Vermischung mit frischem Blut nachzuweisen vermocht. Einmal gebunden, büßt das Arachnolysin seine Eigenschaften vollständig ein. Dieses Ergebnis stimmt nicht überein mit den Angaben von Sachs (14); es ist jedoch wahrscheinlich, daß eben erst dann eine Abgabe des Arachnolysins von den Stromata an neu hinzugefügte Blutkörperchen erfolgt, wenn dieselben mit einer sehr großen Menge Arachnolysin vorbehandelt wurden.

Welcher Art sind nun die Bedingungen, unter welchen die Bindung des Arachnolysins durch die Blutkörperchen vor sich geht?

Das auf 56—57° erwärmte Blut wird lackfarben, erfährt aber hinsichtlich der Bindung des Giftes eine merkbare Beeinträch-

tigung nicht. Bei der Temperatur von 61—62° und darüber, bei der das Blut bereits zu gerinnen beginnt, verschwindet das Bindungsvermögen des Blutes vollständig.

Tabelle VII.

A. 5 ccm einer 5prozentigen Kaninchenblutemulsion nebst 0,125 ccm einer 10prozentigen Arachnolysinlösung wurden 30 Minuten lang bei 40° erwärmt. Mit dem darauf gewonnenen Abguß wurden hämolytische Experimente angestellt.
B. Die Blutemulsion wurde gekocht.
C. Die Blutemulsion wurde bei 60—61° ½ Stunde lang gewärmt.
D. Die Blutemulsion wurde ebensolange bei 57—58° erwärmt.
E. Kontrollexperiment mit Kaninchenblutemulsion (0,125 ccm einer 10prozentigen Arachnolysinlösung + 5 ccm Chlornatriumlösung).

Abguß-menge	Experi-ment A	Experiment B	Experiment C	Experi-ment D	Experiment E
2,0	0	komplett	komplett	0	komplett
1,0	0	„	„	0	„
0,5	0	„	„	0	„
0,25	0	„	„	0	„
0,1	0	fast komplett	fast komplett	0	fast komplett
0,05	0	stark	stark	0	stark
0,025	0	mäßig	mäßig	0	mäßig
0	0	0	0	0	0

Was die niedrigeren Temperaturen betrifft, so findet hier die Bindung des Arachnolysins, wie ich mich überzeugt habe, nur in dem Maße statt, wie die Hämolyse vor sich geht.

Bei 0° wird Ziegenblut durch das Arachnolysin sehr schwach gelöst, und dementsprechend sehen wir, daß auch von einer Bindung des Giftes fast gar nichts zu sehen ist. Kaninchenblut wird jedoch auch bei 0° gelöst, und dementsprechend wird auch Bindung des Arachnolysins beobachtet.

Tabelle VIII.

A. 5 ccm einer 5prozentigen Kaninchenblutemulsion + 0,1 ccm einer 10prozentigen Arachnolysinlösung wurden bei 0° stehen gelassen. Nach 15 Minuten wurde die Mischung, welche lack-

förmig geworden war, rasch zentrifugiert, worauf mit dem Abgusse hämolytische Experimente angestellt wurden.

B. Dasselbe Experiment mit Ziegenblut (die Mischung wurde bei 0° 2 Stunden lang stehen gelassen; nur Spuren von Hämolyse).

C. Kontrollversuch (entsprechende Arachnolysinmenge) mit Kaninchenblut.

D. Kontrollversuch mit Ziegenblut.

Abguß-menge	Experiment A	Experiment B	Experiment C	Experiment D
1,0	komplett	komplett	komplett	komplett
0,5	fast komplett	fast komplett	"	"
0,25	stark	fast komplett	"	fast komplett
0,1	"	Spuren	fast komplett	Spuren
0,05	mäßig	0	stark	0
0,025	wenig	0	mäßig	0
0	0	0	0	0

Wir sehen also, daß dort, wo Hämolyse vorhanden ist, auch Bindung beobachtet wird und umgekehrt, daß dort, wo Hämolyse nicht vorhanden ist, auch keine Bindung vor sich geht.

Dieses Verhalten spricht für die einheitliche Natur des Arachnolysins, da bei einer Zusammensetzung eines Hämolysins aus Amboceptor und Komplement bei 0° nur der Amboceptor gebunden wird, eine Hämolyse daher nicht stattfindet.

III.

Beim Versuch, den Unterschied im Verhalten des Arachnolysins dem Blute verschiedener Tiere gegenüber zu erklären, drängt sich entsprechend Ehrlichs Vorstellungen über die Receptoren der Gedanke auf, daß die Ursache der in Rede stehenden Erscheinung in gewissen chemischen Verbindungen liegen müsse, welche in der einen Blutart vorhanden sind und in der anderen fehlen.

Kyes (20) und Sachs (21) haben die Bedeutung des Lecithins für die Hämolyse durch Kobragift festgestellt. Dieses Gift besitzt dem Blute von Tieren gegenüber schwache hämolytische Kraft. Das Lecithin, welches an und für in geringen Mengen sich dem Blute gegenüber sich indifferent verhält, bildet in Verbindung mit dem Gift ein Lecithid, welches sehr stark ausgesprochene hämolytische Eigenschaften besitzt.

Es spielt, wie von Kyes und Sachs wahrscheinlich gemacht wurde, das Lecithin der Blutkörperchen selbst eine ausschlaggebende Rolle für das Zustandekommen der Hämolyse durch Kobragift.

Das Cholestearin besitzt, wie die Beobachtungen ergeben haben, Eigenschaften, die denjenigen des Lecithins entgegengesetzt sind, indem es die hämolytische Kraft mancher Gifte herabsetzt. Als erster hat dies Ransom (22) in bezug auf das Saponin festgestellt; dann haben Noguchi (23), Landsteiner und Eisler (24), P. Th. Müller (25) diesbezügliche Beobachtungen hinsichtlich des Tetanolysins gemacht. Somit kann durch das Vorhandensein von Cholestearin im Blute die antihämolytische Kraft des Blutes den soeben erwähnten Giften gegenüber erklärt werden.

Es war im Hinblick auf die Bedeutung dieser lipoiden Substanzen für die hämolytischen Vorgänge von Interesse, zu untersuchen, ob auch die Hämolyse durch Arachnolysin durch Lecithin oder Cholestearin in irgend einem Sinne beeinflußt würde. Denn eine solche Beeinflussung läßt immerhin den Schluß zu, daß zum mindesten eine Beziehung zwischen dem Toxin und den Lipoiden der Blutkörperchen besteht, wenn man auch nicht etwa berechtigt ist, diese Beziehungen als die allein für das Zustandekommen der Hämolyse maßgebenden anzusehen.

Bei der Wirkung des Arachnolysins spielt das Lecithin gar keine Rolle, während das Cholestearin die hämolytische Wirkung des Arachnolysins herabsetzt.

Tabelle IX. Einfluß des Lecithins und Cholestearins.

Quantität der 1 proz. Arachnolysinlösung	Quantität der Lecithinlösung (5 proz. in Methylalkohol)	Resultat nach zweistündiger wechselseitiger Wirkung	Kontrollversuch ohne Lecithin	Quantität der Cholestearinlösung (gesättige Lösung in Methylalkohol)	Resultat nach zweistündiger wechselseitiger Wirkung	Kontrollversuch ohne Cholestearin (mit entsprechender Dosis Methylalkohol)
1,0	0,1	komplett	komplett	Zu 3 ccm 1 proz. Arachnolysinlösung wurde 1 ccm Cholestearinl. hinzugesetzt	komplett	komplett
0,5		„	„		„	„
0,25		„	„		fast kompl.	„
0,1		fast kompl.	fast kompl.		Spuren	„
0,05		stark	stark		0	fast kompl.
0,025		Spuren	Spuren		0	Spuren

Anmerkung: Methylalkohol selbst hat keine hämolytische und keine hemmende Wirkungen in den hier in Betracht kommenden Mengen.

Es ist deshalb daran zu denken, daß auch bei der Hämolyse das Arachnolysin mit dem Cholestearin der Erythrocyten in Beziehung tritt[1]).

Hinsichtlich der Wirkung der verschiedenen Sera fand ich, daß nur das Serum der Tauben dem Arachnolysin gegenüber ausgesprochene antihämolytische Wirkung besitzt; dagegen besitzen die Sera der anderen von mir zu meinen Versuchszwecken verwendeten Tiere entweder eine sehr schwache oder gar keine antihämolytische Wirkung. (Tabelle XI).

Tabelle XI.

Das Serum wurde zuvor ½ Stunde bei 55° inaktiviert, dann zu 5 ccm des Serums 0,125 ccm einer 10prozentigen Arachnolysinlösung hinzugesetzt. Nach ½stündigem Stehen bei 40° wurde die Mischung auf ihre hämolytische Wirkung geprüft.

Flüssigkeitsquantität	Sera von						
	Hammel	Ochse	Taube	Meerschweinchen	Kaninchen	Ziege	Kontrollexperiment (ohne Serum)
1,0	fast kompl.	kompl.	mäßig	komplett	komplett	komplett	komplett
0,5	"	"	0	"	"	"	"
0,25	stark	"	0	stark bis fast kompl.	fast kompl.	fast kompl. bis stark	kompl. bis fast kompl.

[1]) Ich habe ferner die Beobachtung gemacht, daß Glykogen und Harnstoff die hämolytischen Eigenschaften des Arachnolysins gleichfalls herabsetzten (Tabelle X).

Tabelle X. Einfluß des Harnstoffes und Glykogens.

Harnstoff			Glykogen	
Arachnolysinmenge	Quantität der 10proz. Harnstofflösung	Resultat nach ½ stünd. wechselseitiger Wirkung bei 40°	Quantität der 10proz. Glykogenlösung	Resultat nach ½ stünd. wechselseitiger Wirkung
0,5	0,2	fast komplett	0,1	fast komplett
0,5	0,3	"	0,2	"
0,5	0,4	"	0,3	stark
0,5	0,0	komplett	0,0	komplett
0,25	0,2	mäßig	0,1	wenig
0,25	0,3	wenig	0,2	Spuren
0,25	0,4	stark	0,3	wenig
0,25	0,0	komplett	0,0	komplett

Jedenfalls ist aus der Tabelle zu ersehen, daß keinerlei gesetzmäßige Beziehung zwischen der Empfindlichkeit der Blutkörperchen und der Schutzwirkung der entsprechenden Sera besteht.

IV.

Nach meinen Beobachtungen erweist sich das Arachnolysin nicht nur in bezug auf die roten, sondern auch in bezug auf die weißen Blutkörperchen als toxisch. Wenn das Arachnolysin mit den weißen Blutkörperchen in Berührung gebracht wird, so erzeugt es in denselben starke Veränderungen: die Leukocyten werden rund, unbeweglich und zeigen Neigung zur Agglutination. Bei Färbung der Präparate sieht man, daß die weißen Blutkörperchen sich häufig im Stadium der Leukolyse befinden, wobei ihre Kerne sich mangelhaft färben. Das phagocytäre Vermögen der Leukocyten in bezug auf Mikroorganismen im Beisein von spezifischem Serum wird entweder vollständig vernichtet oder stark herabgesetzt.

Als Ausgangsmaterial für die nachfolgenden Experimente dienten Leukocyten von Meerschweinchen, welche aus einem Exsudat gewonnen wurden (zu diesem Zwecke wurden den Meerschweinchen 24 Stunden vor dem Versuch ca. 2 g Aleuronat in 10 ccm Bouillon in die Bauchhöhle eingespritzt); durch wiederholtes Zentrifugieren wurden die Leukocyten von den Serumspuren befreit; ich bediente mich bei meinen Experimenten des spezifischen Serums gegen den Vibrio Naskin und des Vibrio Naskin[1]). Die Experimente wurden nach der von Neufeld (26) angegebenen Methodik angeordnet.

In sieben kleine Reagensgläschen wurden je 2 Tropfen einer ziemlich dichten Leukocytenemulsion und je 1 Tropfen Arachnolysin gebracht, und zwar in das 1. Reagensgläschen in 10prozentiger Lösung, in das 2. in einer solchen von 1 : 100, in das 3. in einer solchen von 1 : 1000, in das 4. in einer solchen von 1 : 10 000. Diese Reagensgläschen wurden für die Dauer von 15 Minuten in das Wasserbad von 40° gebracht, worauf in jedes einzelne Reagensgläschen je 1 Tropfen spezifischen Serums in einer Verdünnung von 1 : 10 gegeben wurde; mit dem 5. Reagensgläschen geschah dasselbe, jedoch wurde kein Arachnolysin hineingebracht; in das 6. Reagensgläschen wurden dieselben Quantitäten von der Leukocytenemulsion und vom Arachnolysin (1 : 10), in das 7., welches zur Kontrolle diente, jedoch nur Leukocytenemulsion hineingebracht. Die Reagensgläschen wurden 2 Stunden lang im Brutschrank gehalten, worauf mikroskopische Präparate

---

[1]) Das Serum verdanke ich Herrn Dr. Arinkin, den Vibrio Herrn Prof. R. Kraus in Wien.

angefertigt wurden (Fixierung mittels Ätheralkohol, Färbung mittels Boraxmethylenblau). Im 1. und 2. Reagensgläschen konstatierte man vollständiges Fehlen von Phagocytose, im 3. und 4. Spuren, im 5. sehr starke Phagocytose, im 6. Reagensgläschen haben die Leukocyten die oben geschilderten Veränderungen erlitten, im 7. blieben sie vollständig unverändert, so daß sie sich (im hängenden Tropfen) bewegten usw.

Nachdem ich mich auf diese Weise von der leukotoxischen Wirkung des Arachnolysins überzeugt hatte, stellte ich fest, daß Arachnolysin dabei von den Leukocyten fixiert wird.

Tabelle XII.

Zu 5 ccm einer 5prozentigen Leukocytenemulsion wurden 0,25 ccm einer 10prozentigen Arachnolysinlösung hinzugesetzt. Nach 45 Minuten langem Stehen im Wasserbad bei 40° wurde die Mischung zentrifugiert, worauf mit dem Zentrifugat die üblichen hämolytischen Proben mit Kaninchenblut gemacht wurden.

Abgußmenge	Resultat	Kontrollversuch
2,0	sehr stark	komplett
1,0	stark	„
0,5	wenig	„
0,25	Spuren	„
0,1	0	fast komplett
0,05	0	stark
0,025	0	mäßig
0	0	0

Es haben sich somit ca. $^{19}/_{20}$ der gesamten Arachnolysinmenge als gebunden erwiesen.

Die toxische Wirkung des Arachnolysins auf die Leukocyten ist, wie aus Tabelle XII zu ersehen ist, mit der Bindung desselben durch die empfindlichen Elemente verknüpft.

Ein ähnliches „Leukocidin" wurde zuerst von van de Velde in Staphylokokkenkulturen beobachtet und als echtes Toxin erwiesen. M. Neisser und Wechsberg (27) konnten dann in derselben Kulturflüssigkeit ein hämolytisches Toxin nachweisen. Durch Bindungsversuche zeigten diese Autoren, daß die haptophore Gruppe des Leukocidins und des Hämolysins identisch ist, ganz entsprechend unseren eben geschilderten Beobachtungen.

Beim Arachnolysin tritt aber ein besonders merkwürdiges Verhältnis zutage, das für die Frage der Verteilung der Receptoren im Organismus von Bedeutung ist. Während nach den Versuchen von Sachs, die wir bestätigen konnten, die Erythrocyten des Meerschweinchens dem Arachnolysin gegenüber vollkommen unempfindlich sind und auch dasselbe nicht binden, zeigen die eben besprochenen Versuche, daß im Gegensatz zu den Erythrocyten die Leukocyten das Arachnolysin verankert und von demselben geschädigt werden. Die Verankerung des Hämolysins läßt sich natürlich nur mittels des hämolytischen Versuchs an empfindlichen Blutkörperchen (in unserem Fall Kaninchenblut) feststellen. Es gibt sich also eine ganz besondere Verteilung der Receptoren kund, indem die Leukocyten des Meerschweinchens Receptoren besitzen, die den Erythrocyten desselben Tieres vollkommen fehlen, während sie sich wiederum in den empfindlichen Erythrocyten anderer Tierspezies nachweisen lassen.

V.

Während die Versuche von Kraus und Lipschütz (28) interessante Erhebungen in bezug auf die antihämolytische Wirkung der Organextrakte auf manche Hämolysine bakteriellen Ursprungs (Vibrio Naskin, Staphylokokkus, Megatherium) ergeben haben, haben meine weiteren einschlägigen Experimente gleichfalls interessante Beziehungen zwischen dem Hämolysin des Arachnolysins und den Organen des tierischen Organismus zutage gefördert. Emulsionen[1]), welche mit dem Gehirn, den Hoden und Nieren verschiedener Tiere angefertigt wurden, haben sich den hämolytischen Eigenschaften des Arachnolysins gegenüber als indifferent erwiesen. Die Leber, Milz und die Muskeln besitzen dagegen in bedeutendem Grade die Fähigkeit, die hämolytische Wirkung des Giftes zu neutralisieren (Tabelle XIII). Diese Fähigkeit kommt, wie ich mich überzeugt habe, und wie die oben erwähnten Autoren es in bezug auf bakterielle Hämolyse gezeigt haben, nicht dem Stroma der Zellen, sondern ihren Säften zu, d. h. demjenigen Bestandteile, der in die physiologische Kochsalzlösung übergeht (Tabelle XIII).

[1]) Eine abgewogene Quantität des betreffenden Organs, wurde in einem Porzellanmörser mit feinem sterilen Quarzsand verrieben.

Tabelle XIII.

Aus verschiedenen Organen wurden $2\frac{1}{2}$-, 5-, 10- und 20prozentige Emulsionen mit 0,85 NaCl gemacht. Zu den Abgüssen (nach der Zentrifugierung) wurde 0,05 ccm 10prozentiger Arachnolysinlösung zu 1 ccm der Flüssigkeit hinzugesetzt. Nach 45 Minuten langem Stehen der Mischungen im Wasserbad bei 40° wurden hämolytische Proben mit Kaninchenblut angesetzt.

Bindung mittels Organemulsion	Kaninchen					Meerschweinchen					
	Hirn	Leber	Muskeln	Milz	Nieren	Hirn	Leber	Muskeln	Milz	Nieren	Hoden
$2\frac{1}{2}$%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5%	0	fast 0	fast 0	stark	fast 0	0	stark	stark	f. komplett	wenig Sp.	0
10%	0	mäßig	komplett	komplett	wenig	0	f. komplett	komplett	komplett	wenig	0
20%	0	komplett	"	"	"	0	komplett	"	"	"	0
	Maus					Katze					
$2\frac{1}{2}$%	0	—	0	—	—	0	0	wenig	wenig	0	0
5%	mäßig	stark	mäßig	—	f. komplett	0	komplett	"	"	wenig	0
10%	"	"	komplett	—	"	0	"	komplett	komplett	"	0
20%	—	komplett	"	—	komplett	0	"	"	"	—	0

Wir sehen also, daß bei ein und demselben Tiere die verschiedenen Gewebe sich der hämolytischen Eigenschaft des Arachnolysins gegenüber verschieden verhalten. Beim Meerschweinchen, dessen Erythrocyten, wie wir gesehen haben, für das Arachnolysin absolut unempfindlich sind und die Fähigkeit, dasselbe zu binden, nicht besitzen, kommt diese Eigenschaft der Leber, der Milz, den Muskeln und den Leukocyten zu, während das Gehirn, die Hoden und zum Teil die Nieren sie nicht besitzen. Bei Kaninchen ist das Blut für das Arachnolysin sehr empfindlich und besitzt auch die Eigenschaft, dasselbe zu binden, während die Muskeln diese Eigenschaft nur in schwachem Grade besitzen. Einem großen Teil der Organe der Maus, darunter auch dem Gehirn, kommt die in Rede stehende Eigenschaft zu.

Die chemische Ursache dieses verschiedenen Verhaltens bleibt hier sowohl, wie auch im Falle der Hämolyse des Blutes mancher Tiere und des indifferenten Verhaltens des Blutes anderer Tiere dunkel, wenn man nicht als Hilfshypothese die Verteilung der Receptoren zugrunde legt.

Was die Bedingungen der Neutralisation betrifft, so sind sie mit denjenigen für das Blut identisch. Temperaturen bis 60° bleiben auf die Bindungfähigkeit ohne Einfluß, während ½stündiges Erwärmen bei 60° und darüber diese Eigenschaft vollständig vernichtet.

Es muß noch bemerkt werden, daß bei Erwärmung bis 56° und darüber aus der Organemulsion ein zarter, weißer Niederschlag ausfällt, worauf die bis dahin trübe und undurchsichtige Flüssigkeit farblos und durchsichtig wird. Die Flüssigkeit büßt ihr Vermögen, das Arachnolysin zu neutralisieren, nicht ein, während der Niederschlag diese Eigenschaft auch nicht im geringsten Grade aufweist.

Ich habe versucht, das gebundene Toxin freizumachen. In Anbetracht der Experimente von Calmette (29) mit dem Kobragifte und demjenigen von Wassermann (30) mit dem Pyocyanolysin und deren Sera dürfte man entnehmen, daß man die Freimachung des gebundenen Toxins durch Erwärmung würde erreichen können, um so mehr, als das Arachnolysin, wie Sachs nachgewiesen hat, ohne Schaden Temperaturen von 60—70°, d. h. solche Temperaturen, bei denen, wie wir gesehen

haben, die Muskelemulsion, sowie die übrigen Emulsionen ihre Fähigkeit, das Arachnolysin zu binden, einbüßen, verträgt. Jedoch sind alle meine bezüglichen Experimente resultatlos verlaufen. Sobald die Bindung einmal stattgefunden hat, vermögen weder Erwärmung noch Filtrierung, noch längeres Stehen auch nur Spuren von der hämolytischen Eigenschaft des Arachnolysins wieder hervorzubringen.

VI.

Kobert (l. c.) hat bereits festgestellt, daß das Arachnolysin eine sehr giftige Substanz ist, nach deren Injektion Tiere (hauptsächlich Katzen und Hunde) unter Krämpfen, Lungenödem, hochgradiger Herabsetzung des Blutdrucks und unter Erscheinungen von akuter Intoxikation zugrunde gehen.

Ein ebenso starkes Gift ist nach meinen Beobachtungen das Arachnolysin auch für Mäuse. 0,25 ccm einer 10 prozentigen Arachnolysinlösung, intraperitonell injiziert, töten eine Maus in 24 Stunden; die toxische Wirkung des Giftes stellt sich bereits 5—10 Minuten nach der Injektion ein; die Maus bietet Symptome einer sehr schweren Erkrankung dar. Krämpfe fehlen. Bei der Sektion fällt das Vorhandensein eines reichlichen Exsudats in der Bauchhöhle auf.

Nach den in vorstehenden Kapiteln beschriebenen Versuchen war es durchaus natürlich, sich die Frage vorzulegen, wie eine Arachnolysinlösung, welche in hämolytischer Beziehung mittels Blutes oder Organzellen neutralisiert worden ist, auf den Gesamtorganismus wirken würde.

Wie oben bereits erwähnt, haben Wassermann und Takaki (31) zuerst darauf hingewiesen, daß eine derartige Neutralisierung des Tetanusgiftes dadurch erreicht werden kann, daß man das Gift mit einer Gehirnemulsion vermengt; bei einem gewissen Prozentverhältnis erzeugte die Injektion dieser Mischung keinen Tetanus. Das Rückenmark hat sich als weniger aktiv erwiesen, während die mit anderen Organen (des Meerschweinchens) hergestellten Emulsionen die bezeichnete Fähigkeit überhaupt nicht besaßen.

Fast gleichzeitig sind ebensolche Experimente von Ran-

som (32) veröffentlicht und bald darauf von verschiedenen anderen Forschern bestätigt worden.

Kempner und Schepilewsky (33) fanden, daß die Hirnemulsion noch ein anderes Nervengift, nämlich das Gift des Botulismus, zu neutralisieren vermag.

Diese Experimente haben einen sehr lebhaften Gedankenaustausch zwischen den Forschern zur Folge gehabt, und das Resultat davon war, daß der antitoxische Charakter der Bindung der obenerwähnten Gifte durch Hirnemulsion in Zweifel gezogen wurde.

Marie (34) hat im Laboratorium von Metschnikoff festgestellt, daß Hirnemulsion auch nicht im entferntesten ein Tier vom Tode zu retten vermag, wenn man dieselbe nicht zugleich mit dem Tetanustoxin injiziert (das Toxin in die eine, die Emulsion in die andere Pfote), selbst wenn von der Emulsion eine bedeutende Quantität injiziert wird. Danysz (35) fand, daß beim längeren Stehen eines mittels Emulsion neutralisierten Toxins ein Teil des Toxins wieder frei wird und in die Lösung übergeht. Dönitz hat festgestellt, daß auch andere Organe das Tetanustoxin zu binden vermögen. Besredka (36) suchte durch komplizierte Experimente den Nachweis zu führen, daß die Bindung des Tetanustoxins durch Hirnemulsion nicht spezifischer Natur ist. Studentsky (37) hat im Laboratorium von Roux nachgewiesen, daß die Fähigkeit, Tetanusgift zu fixieren, nicht nur dem Nervengewebe, sondern auch solchen Substanzen, wie beispielsweise Carmin zukommt. — Aus diesem Grunde hat Metschnikoff (38) die Experimente von Wassermann und Takaki in der Weise erklärt, daß die Phagocyten Tetanustoxin aufgegriffen haben, das durch die Hirnpartikelchen nur mechanisch gebunden war.

Viele Autoren suchten analoge Bindung mit anderen Giften (Diphtherietoxin, Schlangengift usw.) zu erzielen, jedoch ohne Resultat.

Indem ich nun zu meinen Experimenten zurückkehre, muß ich sagen, daß es mir nur in einer sehr geringen Anzahl von Fällen gelang, Mäuse vom Tode zu retten, während in der Mehrzahl der Fälle das durch Blut oder Organemulsion gebundene Arachnolysin ebenso giftig wirkte wie gewöhnliches Arachnolysin.

Tabelle XIV.

Einer Reihe von Mäusen wurde genau die tödliche Arachnolysindosis (0,25 ccm einer 10 prozentigen Lösung) nebst 0,55 ccm einer 50 prozentigen Emulsion aus Leber, Hirn eines Meerschweinchens sowie nebst 0,55 ccm gewaschener Blutkörperchen von Kaninchen injiziert, nachdem die bezeichneten Mischungen zuvor 45 Minuten lang auf dem Wasserbade bei 40° erwärmt wurden.

Emulsion aus	Mäuse			
	1	2	3	4
Leber	Ging in 24 Stunden zugrunde	Blieb am Leben	Ging in 40 Stunden zugrunde	Ging in 20 Stunden zugrunde
Hirn	Ging in 20 Stunden zugrunde	Ging in 20 Stunden zugrunde	Ging in 40 Stunden zugrunde	Blieb am Leben
Blut	Blieb am Leben	Ging in 24 Stunden zugrunde	Ging in 24 Stunden zugrunde	Ging in 24 Stunden zugrunde
Arachnolysin allein	Gingen in 24 Stunden zugrunde			

Diese Beobachtung in Verbindung mit den Tatsachen, welche in den vorstehenden Kapiteln in bezug auf die Bindung der hämolytischen Eigenschaften des Arachnolysins erwähnt worden sind, bringt mich zu dem Schluß, daß das letztere aus zwei Bestandteilen, nämlich aus einem hämolytischen und einem toxischen Teile besteht. Übrigens habe ich an Multiplizität der toxischen Komponenten des Arachnolysins bereits früher denken müssen, und zwar auf Grund folgender zwei Beobachtungen: erstens bewirkt wiederholte Gefrierung und Auftauung des Arachnolysins einen vollständigen Verlust der hämolytischen Eigenschaften desselben, während seine Toxizität für Tiere unverändert bleibt; zweitens verschwinden die hämolytischen Eigenschaften des Arachnolysins, sobald in demselben Bakterien zu wuchern beginnen, sehr rasch, während die toxischen Eigenschaften erhalten bleiben. Im nachstehenden werden wir noch einem weiteren Beweis für die Multiplizität der Gifte des Arachnolysins begegnen.

Es war auch von Interesse zu untersuchen, ob die Organe von Mäusen, welche an Arachnolysinvergiftung zugrunde gegangen sind, die hämolytischen Eigenschaften des Arachnolysins zu binden vermögen.

Tabelle XV.

Bindung des Arachnolysins mittels 10prozentiger Emulsionen aus Organen von Mäusen.

	Leber		Nieren		Hirn		Muskeln	
Abguß-quantität	einer infolge von Arachnolysin gestorbenen Maus	einer gesunden Maus	einer infolge von Arachnolysin gestorbenen Maus	einer gesunden Maus	einer infolge von Arachnolysin gestorbenen Maus	einer gesunden Maus	einer infolge von Arachnolysin gestorbenen Maus	einer gesunden Maus
1,0	wenig	Spuren	Spuren	Spuren	komplett	stark	wenig	0
0,5	„	„	„	„	„	„	„	0
0,25	Spuren	0	„	0	fast kompl.	mäßig	„	0
0,1	0	0	„	0	stark	„	Spuren	0
0,05	0	0	0	0	mäßig	Spuren	0	0
0,025	0	0	0	0	wenig	Spuren-0	0	0
0,0	0	0	0	0	0	0	0	0

Den Mäusen wurde die minimale tödliche Arachnolysindosis injiziert.

Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, erfahren die in Rede stehenden Eigenschaften eine außerordentlich unbedeutende Verringerung. Übrigens müssen die Organe der Maus auch bei Berechnung der vom Organismus des Tieres gebundenen Hämolysinquantität bei der tödlichen Minimaldosis noch die Fähigkeit, Arachnolysin zu binden, weiter behalten.

Die tödliche Minimaldosis, welche 0,25 ccm 10prozentiger Arachnolysinlösung beträgt, wird im Durchschnitt durch 5—10 ccm 5prozentiger Emulsion oder durch 0,25 g Organsubstanz gebunden. Beim durchschnittlichen Körpergewicht der Maus, welches 15 g beträgt, wird die verwendete Arachnolysinquantität die hämolytische Affinität des Organismus der Maus bei weitem nicht sättigen.

Die Organe der Tiere, welche an anderen Infektionen zugrunde gegangen sind (ich habe Fälle von Infektion mit Vibrio Naskin

und Tuberkelbazillen untersucht), haben eine Verringerung der antihämolytischen Eigenschaften nicht dargeboten.

VII.

Kobert hat auf die Möglichkeit einer Immunisation gegen Arachnolysin hingewiesen. Sachs hat gleichfalls ein Serum gegen Arachnolysin durch allmähliche Immunisierung von Meerschweinchen dargestellt.

Die von mir zu diesem Zwecke vorgenommene Immunisierung von Kaninchen hat gleichfalls in vollem Maße die Möglichkeit einer Gewinnung von spezifischem Serum ergeben und außerdem weitere interessante Beobachtungen gestattet.

Einem 1370 g wiegenden Kaninchen wurde am 3. März 1 ccm einer Arachnolysinlösung von 1 : 1000 intravenös injiziert. Am 9. März (Körpergewicht 1350 g) wurde diese Injektion wiederholt. Am 12. März (Körpergewicht 1320 g) wurde dieselbe Injektion intraabdominal gemacht. Am 16. März (Körpergewicht 1410 g) wurden 1,75 ccm von derselben Arachnolysinlösung intraabdominal injiziert. Am 20. März wurde das Serum auf seine antihämolytischen Eigenschaften geprüft. $^1/_{20}$ ccm von diesem Serum schützte 1 ccm 5prozentiger Kaninchenblutemulsion vor der hämolytisch wirkenden Arachnolysin-Minimaldosis. Am 20. März (Körpergewicht 1550 g) wurde in die Vene 1 ccm 10prozentiger Arachnolysinlösung injiziert und am 23. März das Serum wiederum auf seine antihämolytischen, sowie auch antitoxischen Eigenschaften geprüft. Die Minimaldosis, welche vor Hämolyse zu schützen vermochte, betrug $^1/_{40}$ ccm. Die Minimaldosis, welche (mit einer Injektion von doppelter tödlicher Arachnolysindosis das Tier vor dem Tode schützte, betrug 0,5 ccm.

Am 23. März (Körpergewicht 1440 g) wurde 1 ccm reinen Arachnolysins in die Vene injiziert und am 26. März die antihämolytischen sowohl wie die antitoxischen Eigenschaften des Serums geprüft. Diese Eigenschaften haben sich als unverändert erwiesen.

Am 2., 12. und 25. April bekam das Kaninchen je 1 ccm reinen Arachnolysins in die Vene injiziert.

Am 1. Mai (Körpergewicht 1500 g) wurde die antihämolytische und antitoxische Wirkung des Serums geprüft. Die antihämolytische Wirkung hat sich als unverändert erwiesen ($^1/_{40}$ ccm); die antitoxische Wirkung zeigte sich dagegen bedeutend gesteigert: Die Minimaldosis, welche vor zweimaliger tödlicher Arachnolysindosis zu schützen vermochte, betrug $^1/_{30}$ ccm.

Es wird somit gleich vom Beginn der Immunisation das Fehlen eines Parallelismus im Anwachsen der antihämolytischen und antitoxischen Eigenschaften des Serums beobachtet.

Die antihämolytischen Eigenschaften bleiben, indem sie rasch die Maximalgrenze erreichten, auf dieser Höhe während der weiteren Immunisierung. Dagegen zeigten die antitoxischen Eigenschaften noch weitere Steigerungen.

Was die Beziehungen des Blutes des immunisierten Tieres zum hämolysierenden Einfluß des Arachnolysins betrifft, so war die Widerstandsfähigkeit des Blutes dem Arachnolysin gegenüber zu Beginn der Immunisation, wenn auch die antihämolytischen Eigenschaften diejenige Höhe erreichten, auf der sie während der weiteren Zeit blieben, vollständig normal. Gegen Ende der Immunisation, wo die antitoxischen Eigenschaften bereits sehr stark gestiegen waren, während die antihämolytischen ihren früheren Intensitätsgrad behielten, nahm die Widerstandsfähigkeit des Blutes bedeutend zu. Zur Lösung mußte man zehnmal so viel Arachnolysin nehmen als früher (das Blut wurde vor dem Experiment siebenmal gewaschen) (Tabelle XVI).

Tabelle XVI.

Quantität der 1 proz. Arachnolysinlösung	Blut von immunen Kaninchen	Kontrollblut
1,0	f. kompl.-stark	komplett
0,5	stark	"
0,25	wenig	"
0,1	Spuren	f. komplett
0,05	0	stark
0,025	0	mäßig
0,01	0	wenig
0,005	0	Spuren
0,0025	0	0
0	0	0

VIII.

Welcher Zusammenhang besteht nun zwischen der Bindung der hämolytischen Eigenschaften des Arachnolysins durch das gewonnene Serum und den oben beschriebenen Eigenschaften des Blutes und der Organemulsion von für Arachnolysin empfindlichen Tieren?

Zur Lösung dieser Frage stellte ich folgende Experimente an:

5 ccm einer 5 prozentigen Kaninchenblutemulsion wurden mit der hämolytisch wirkenden Arachnolysin-Minimaldosis (0,0625 ccm einer 10 prozentigen Lösung) 45 Minuten lang in einem Wasserbade bei einer Temperatur von 40° erwärmt und hierauf zentrifugiert. Zum Abguß wurde antihämolytisches Serum mit der Berechnung hinzugesetzt, daß eine Verdünnung im Verhältnis von 1 : 10 entstand (zu 3,6 Abguß wurden 0,4 Serum hinzugesetzt). Die Mischung wurde ½ Stunde lang im Wasserbade gehalten, worauf verschiedene Quantitäten der Mischung in Reagensgläschen gebracht wurden, welche die für 1 ccm Kaninchenblutemulsion hämolytische Arachnolysin-Minimaldosis enthielten. Das erzielte Resultat war demjenigen des Kontrollversuchs vollständig analog, indem dieselbe Serummenge mittels physiologischer Kochsalzlösung verdünnt war.

In der ersten Hälfte des Experimentes, wo das Arachnolysin und die Blutemulsion miteinander vermischt waren, neutralisierte somit letztere tatsächlich denjenigen Teil, der in der zweiten Hälfte des Experimentes von Serum neutralisiert wurde; andernfalls hätte ein Teil des antihämolytischen Serums zur Neutralisierung der ersten Arachnolysinquantität verbraucht werden müssen, was wir jedoch nicht sehen.

In der gleichen Weise experimentierte ich mit den Organsäften und erzielte dasselbe Resultat. Um mich noch mehr zu überzeugen, daß die Bindung der hämolytischen Eigenschaften des Arachnolysins durch das spezifische Serum und Blut oder durch Organe in analoger Weise vor sich geht, habe ich schließlich die Experimente von Marx (39) (bei Neutralisierung von Tetanus) wiederholt: In Reagensgläschen, welche die hämolytisch wirkende Arachnolysin-Minimaldosis enthielten, wurde spezifisches Serum in einer Quantität gebracht, welche zur vollständigen Neutralisierung nicht ausreichte und der fehlende Teil durch eine entsprechende (nach Berechnung) Quantität von Organemulsionen ersetzt, und umgekehrt, die zur Neutralisierung fehlende Organemulsionquantität samt der berechneten Serummenge hinzugefügt. Das Resultat war vollständige Neutralisierung.

Aus diesen Experimenten geht hervor, daß die Bindung des Arachnolysins durch Blut- und Organemulsion, sowie die Bindung durch spezifisches Serum ein und derselben Natur, nämlich antitoxischer Natur ist.

IX.

Die letzte Frage, welche zur Aufgabe meiner Untersuchungen gehörte, war die Feststellung der Eigenschaften des Serums, welches durch die Immunisierung mit Arachnolysin gewonnen wurde, das mittels Organemulsion gebunden war und sein hämolytisches Vermögen eingebüßt hatte. Nur wenige Forscher [Rehns (40), Dungern (41)] haben gefunden, daß die Immuni-

sierung durch mittels spezifischer Sera neutralisierter Toxine und Bakterien antitoxische Eigenschaften nicht zu erzeugen vermag. Die Mehrzahl der Autoren [Nicolle und Trenell (42), Neisser und Lubowsky (43), Sachs (44)] sind aber zu dem Schlusse gelangt, daß die Immunisierung mittels neutralisierten Toxins in der Mehrzahl der Fälle zur Bildung von Antitoxinen führt, die allerdings weit schwächer sind als diejenigen, die bei der Immunisierung mit intakten Toxinen entstehen.

Ich habe zwei Kaninchen mittels intravenöser Injektion von 1 ccm einer 10prozentigen Arachnolysinlösung mit 5 ccm einer 20prozentigen Emulsion von Muskeln einer Maus immunisiert, und zwar nachdem diese Mischung 45 Minuten lang im Wasserbade bei 40° gestanden hat. Sowohl nach den Berechnungen, wie auch in den Kontrollexperimenten war die hämolytische Fähigkeit der Mischung gleich Null. Nach viermaliger Wiederholung dieser Injektion wurde das Serum geprüft. Dasselbe besaß schwache antihämolytische Eigenschaften (1 ccm im Reagensglas mit hämolytisch wirkender Minimaldosis bewirkte eine kaum wahrnehmbare Verringerung des hämolytischen Prozesses). Dagegen waren die antitoxischen Eigenschaften intensiver als die antihämolytischen.

Zusammenfassung.

1. Die Empfindlichkeit der Erythrocyten nahestehender Spezies dem Arachnolysin gegenüber kann eine außerordentlich verschiedene sein. Dem hochempfindlichen Kaninchenblut stehen die vollkommen unempfindlichen Blutkörperchen des Meerschweinchens gegenüber, wie schon Sachs angegeben hat. Analog verhält sich das Blut von Huhn und Taube, Ziege und Schaf.

2. Bei gewissen Blutarten (z. B. Ochsenblut, Ziegenblut) besitzen fast alle Blutkörperchen den gleichen Grad der Giftempfindlichkeit, wie aus dem Ablauf der Hämolyse bei Anwendung verschiedener Giftmengen hervorgeht, bei anderen Blutarten (z. B. Kaninchenblut, Menschenblut) lassen sich verschieden hohe Grade der Empfindlichkeit der Blutkörperchen nachweisen. Das Blut neugeborener Kaninchen enthält Blutkörperchen, die als unempfindlich anzusehen sind, neben Blutkörperchen von hoher Empfindlichkeit. Vereinzelte unempfind-

liche Blutkörperchen lassen sich mikroskopisch auch bei dem empfindlichsten Blut erwachsener Tiere nachweisen.

3. Die Blutkörperchen des Schafes, welche nicht der Hämolyse unterliegen, zeigen bei mikroskopischer Beobachtung Veränderungen unter dem Einfluß des Arachnolysins, welche in dem Austritt kleiner runder Körperchen bestehen, ohne daß der Rest der Blutkörperchen eine wahrnehmbare Schädigung erleidet.

4. Die Stromata empfindlicher Blutkörperchen binden Arachnolysin, diejenigen unempfindlicher Blutkörperchen binden dasselbe nicht, wie bereits Sachs angegeben hat. Stromata empfindlicher Blutkörperchen, welche nach dem Verfahren von Sachs und Pascucci gewonnen sind, zeigen jedoch eine sehr verminderte Bindungsfähigkeit, indem sie nur einen geringen Teil der zur Hämolyse einer entsprechenden Blutmenge führenden Arachnolysinmenge fixieren. Dagegen zeigen Stromata, welche nach einem einfachen Verfahren durch Verreiben des Blutes mit Seesand hergestellt sind, eine weit größere Bindungsfähigkeit.

5. Bei der Herstellung von Stromata nach der Methode von Sachs geht ein erheblicher Teil der giftbindenden Substanz der Blutkörperchen (Receptoren) in der umgebenden Flüssigkeit in Lösung.

6. Bei der Hämolyse selbst findet ein Verlust an Arachnolysin statt, und zwar ist derselbe größer, als der zur Hämolyse notwendigen Arachnolysinmenge entspricht. Die Bindung an frische Blutkörperchen geht der fortschreitenden Hämolyse parallel. Erwärmen des Blutes auf 61—62° hebt die Bindungsfähigkeit auf.

7. Lecithin hat auf die Hämolyse durch Arachnolysin keinen Einfluß. Cholestearin hemmt die Hämolyse. Es ist also an eine Beziehung des Giftes zu dem Cholestearin der Blutkörperchen zu denken, welche eine der Bedingungen für die Fixation und Wirkung des Hämolysins bildet.

8. Eine Beziehung zwischen der Empfindlichkeit der Blutkörperchen und einer antihämolytischen Wirkung der betreffenden Sera besteht nicht. Nur Taubenserum besitzt eine ausgesprochene antihämolytische Wirkung.

9. Die Leukocyten des Meerschweinchens unterliegen einer Giftwirkung des Arachnolysins, die sich in morphologischen Veränderungen und in dem Verlust der phagocytären Fähigkeit derselben äußert. Mit der Giftwirkung ist eine Bindung des Giftes

verbunden. Es ist bemerkenswert, daß die Leukocyten des Meerschweinchens Receptoren besitzen, welche den entsprechenden Erythrocyten vollkommen fehlen.

10. Extrakte aus Leber, Milz und Muskel von Kaninchen, Meerschweinchen, Maus, Katze und anderen Tieren neutralisieren das Hämolysin. Extrakte aus Gehirn, Hoden und Nieren haben entweder keine solche Fähigkeit (Gehirn von Kaninchen, Meerschweinchen, Katze) oder nur eine sehr geringe (Nieren von diesen Tieren, Gehirn von Maus). Die Verteilung der Receptoren ist also bei den verschiedenen Organen verschiedener Tierspezies eine differente. Erwärmen auf 60° hebt die Bindungsfähigkeit der Organextrakte auf, macht jedoch bereits gebundenes Arachnolysin nicht wieder frei.

11. Die Giftigkeit von Arachnolysinlösungen im Tierkörper (Maus) bleibt in der Regel auch nach Aufhebung der hämolytischen Wirkung durch Behandlung mit Blutkörperchen oder Organextrakten vollkommen erhalten.

Wiederholtes Gefrieren und Auftauen des Arachnolysins kann die hämolytische Wirksamkeit aufheben, während die allgemeine Toxizität erhalten bleibt; dasselbe kann bewirkt werden durch Bakterienentwicklung in den Lösungen.

12. Das Serum immunisierter Kaninchen zeigt in seiner antihämolytischen und antitoxischen Wirkung keinen Parallelismus. Das Serum von Kaninchen, welche mit Arachnolysin immunisiert waren, das vorher mit Organsäften vorbehandelt war, zeigte geringe antihämolytische, dagegen stärkere antitoxische Wirkung.

13. Man ist berechtigt, in dem Arachnolysin neben dem Hämolysin noch ein Toxin anzunehmen, welches die allgemeinen Vergiftungserscheinungen im Tierexperiment hervorbringt.

14. Die Blutkörperchen hochgradig immunisierter Kaninchen zeigen eine erhebliche Verringerung ihrer Empfindlichkeit gegenüber dem Arachnolysin.

15. Besonders auf diese Frage gerichtete Versuche führen zu dem Schluß, daß die Bindung des Arachnolysins durch Blutkörperchen und Organextrakte mit der Bindung desselben durch Antitoxin wesensgleich ist, d. h. also, daß in den ersteren Fällen dem Antitoxin entsprechende Receptoren in Betracht kommen.

Literatur.

1. Heymans, Sur la disparition du sang des poisons y injectés. Bull. de l'Acad. R. de méd. de Belgique, **12**, 751, 1898.
2. Bomstein, Über das Schicksal des Diphtherietoxins im Tierorganismus. Centralbl. f. Bakt. **23**, 785, 1898.
3. Crolly, Sur la disparition de la toxine diphtérique etc. Arch. Intern. de Pharmacodyn. **3**.
4. Brunner, Experimentelle und klinische Studien über den Kopftetanus. Beiträge z. klin. Chir. **9**, 269, 1892.
5. Dönitz, Über das Antitoxin des Tetanus. Deutsche med. Wochenschr. **1897**, XXVII, 428.
6. Padoa, Über die verschiedene Wirkung des Diphtherie- und Typhustoxins. Refer. im Malysjahresb. **1899**, 921.
7. Lapique, zitiert nach Nencki. Centralbl. f. Bakt. **23**, 840—880, 1898.
8. Goldberg, Über Ausscheidung des Tetanusgiftes durch Nierensekretion. Centralbl. f. Bakt. **26**, 547, 1899.
9. Metschnikoff, L'immunité dans les maladies infectieuses. Paris 1901.
10. Fermi und Pernossi, Über das Tetanusgift. Zeitschr. f. Hygiene **16**, 385, 1894.
11. Asakawa, Die Basis der natürlichen Immunität des Huhns gegen Tetanus. Centralbl. f. Bakt. **24**, 166, 1898.
12. Kobert, Beiträge zur Kenntnis der Giftspinnen. Stuttgart 1901.
13. Sachs, Zur Kenntnis des Kreuzspinnengiftes. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **2**, Heft 1—3.
14. Derselbe, Über Differenzen der Blutbeschaffenheit in verschiedenen Lebensaltern. Centralbl. f. Bakt. **34**, 686, 1903.
15. Jacoby, Über Crotinimmunität. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 212, 1903.
16. Pascucci, Die Zusammensetzung des Blutscheibenstromas und die Hämolyse. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **6**, 543, 1905.
17. Bordet, Les serums hémolytiques etc. Annales de l'Inst. Pasteur **1900**, 257.
18. Ehrlich und Morgenroth, Über Hämolysine (V. und VI. Mitteilung). Berl. klin. Wochenschr. **1901**, 251—569.
19. Pfeiffer und Friedberger, Über die Antikörper usw. bei Cholera. Berl. klin. Wochenschr. **1902**, 4.
20. Kyes, zitiert nach Sachs: Tierische Toxine als hämolyt. Gifte. Biochem. Centralbl. **1906**, 257, 285.
21. Kyes und Sachs, zitirt ibidem.
22. Ransom, Saponin und sein Gegengift. Deutsche med. Wochenschr. **1901**, 194.
23. Noguchi, The antihaemolyt. action of bloodsera etc. Centralbl. f. Bakt. **32**, 377, 1902.
24. Landsteiner und Eisler, Über die Wirkungsweise hämolytischer Sera. Wiener klin. Wochenschr. **1904**, Nr. 24. 676.
25. Müller, Geht das Tetanolysin mit den Proteiden des Serums und des Eiklars eine ungiftige Verbindung ein? Centralbl. f. Bakt. **34**, 567, 1903.

26. Neufeld und Hüne, Untersuchungen über bactericide Immunität und Phagocytose. Sonderabdruck aus Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt **25**, Heft 1.
27. Neisser und Wechsberg, Über das Staphylotoxin. Zeitschr. f. Hygiene **36**, 299, 1901.
28. Kraus und Lipschütz, Über Antihämolysine normaler Organe. Wiener klin. Wochenschr. **1903**, Nr. 35, 989.
29. Calmette, Contribution à l'étude du vénin des serpents. Annales de l'Inst. Pasteur **1894**, 275.
30. Wassermann, Experimentelle Untersuchungen über einige theoretische Punkte der Immunitätslehre. Zeitschr. f. Hygiene **22**, 263, 1896.
31. Wassermann und Takaki, Über tetanusantitoxische Eigenschaften des normalen Centralnervensystems. Berl. klin. Wochenschr. **1898**, **5**.
32. Ransom, Das Schicksal des Tetanusgiftes nach seiner Einverleibung. Deutsche med. Wochenschr. **1898**, **117**.
33. Kempner und Schepilewsky, Über antitoxische Substanzen gegenüber dem Botulismusgift. Zeitschr. f. Hygiene **27**, 213, 1898.
34. Marie, Recherches sur la toxine tétanique. Annales de l'Inst. Pasteur **1897**, **591**.
35. Danys, Mélanges des toxines et de leurs antitoxines. Annales de l'Inst. Pasteur **1902**, 331.
36. Besredka, De la fixation de la toxine tétanique par le cerveaux. Annales de l'Inst. Pasteur **1903**, 138.
37. Studentsky, Action antitoxique du carmin. Annales de l'Inst. Pasteur **1899**, 126.
38. Metschnikoff, Recherches de l'influence de l'organisme sur les toxines. Annales de l'Inst. Pasteur **1898**, 81—263.
39. Marx, Über die Tetanusgift neutralisierenden Eigenschaften des Gehirns. Zeitschr. f. Hygiene **40**, 1902.
40. Rehns, L'immunité active et les toxines dyphtériques surcompensées. Compt rend. de la Société de Biol. **1901**, 114.
41. Dungern, Beiträge zur Immunitätslehre. Münch. med. Wochenschr. **1900**, 677.
42. Nicolle et Trenell, zitiert nach Neisser und Lubowsky.
43. Neisser und Lubowsky, Läßt sich durch Einspritzung der agglutinierten Typhusbazillen eine Agglutininproduktion hervorrufen? Centralbl. f. Bakt. **30**, 483, 1901.
44. Sachs, Immunisierungsversuche mit immunkörperbeladenen Erythrocyten. Ibidem, 491.

Über die Wirkung der Verdünnung auf natürliches und künstliches Normal- und Immunserum.

Von

L. v. Liebermann und B. v. Fenyvessy.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Budapest [Direktor: Prof. L. v. Liebermann].)

(Eingegangen 24. Juni 1907.)

Aus früheren Untersuchungen, über welche der eine von uns (Liebermann) berichtet hat[1]), ging hervor, daß Gemenge, welche Seife, Ölsäure und Serumalbumin in entsprechenden Verhältnissen enthalten, sich in ihrer Wirkung auf Blutkörperchen den hämatolytischen Immunseris überraschend ähnlich verhalten, wobei die Ölsäure die Rolle eines Immunkörpers (Amboceptor), die Seife diejenige eines Komplementes spielt. Auf Grund von — in der zitierten Mitteilung ausführlich erörterten — Beobachtungen und Überlegungen wurde über die chemische Beschaffenheit der an der hämatolytischen Wirkung der Immunsera beteiligten Substanzen die Vermutung ausgesprochen, daß die Immunkörper säureartigen Charakter haben, die Komplemente aber Seifen (oder ähnliche Salze) sind, welch letztere im Normalserum in einer (hämatolytisch) unwirksamen Eiweißverbindung vorhanden sind.

---

[1]) Diese Zeitschr. 4, 25. Nach Publikation dieser Arbeit und nachdem auch die vorliegende abgeschlossen und zum Teil als vorläufige Mitteilung in der Pester med. chir. Presse publiziert war, erhielten wir Kenntnis von einer Arbeit von Hideyo Noguchi (Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine 4, No. 3, New-York, 15. März 1907, 45). In dieser zeigt Verf., daß der alkoh. Extrakt des Blutserums und mancher Organe Seifen enthält (eine übrigens schon früher bekannte Tatsache) und erkennt, daß diese die Rolle von Komplementen spielen können. Seine Versuche stimmen in zahlreichen wesentlichen Punkten mit den oben zitierten überein.

Von dieser Vorstellung ausgehend, untersuchten wir den Einfluß der Verdünnung einerseits auf Normalserum (Komplement), andererseits auf inaktiviertes hämatolytisches Immunserum (Immunkörper, Amboceptor) und wiederholten diese Versuche mit den analogen künstlichen Gemengen von Seife — Serumalbumin (Komplement) resp. mit Ölsäure-Seife-Serumalbumin (bei 56° inaktiviert = Amboceptor). Es war nämlich der obigen Vorstellung über die Natur der Komplemente und der Immunkörper entsprechend anzunehmen, daß die Komplemente Verbindungen sind, welche in verdünnten Lösungen in ihre Komponenten zerfallen (Hydrolyse, Dissoziation) und hierdurch an hämatolytischer Wirksamkeit zunehmen können, während ein solches Verhalten für die Immunkörper (als schwache Säuren) nicht, oder doch in viel geringerem Grade zu erwarten war. Diese Annahme findet in den unten mitgeteilten Versuchen ihre Bestätigung[1]).

I. Der Einfluß der Verdünnung auf Normalserum und auf inaktiviertes hämatolytisches Immunserum.

Wir haben zu unseren Versuchen Blutserum von Kaninchen verwendet, welche gegen Schweineblutkörperchen (durch 6 bis 7 Injektionen von je 2—3 ccm einer 5prozentigen Emulsion von gewaschenen Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung) immunisiert waren. Dieses wurde bei 56° inaktiviert. Als komplementlieferendes Serum verwendeten wir in einer Reihe von Versuchen Schweineblut-, in einer anderen Reihe aber Rinderblutserum.

Wir haben gefunden, daß die hämatolytische Wirkung eines Normalserums, welches man einer konstanten Menge inaktivierten Immunserums zufügt, sehr bedeutend gesteigert wird, wenn das Normalserum mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wird und zwar derart, daß verdünntere Normalserumlösungen selbst dann, wenn ihr Gehalt an Komplement auch absolut beträchtlich geringer ist als der des unverdünnten Serums, eine bedeutend stärkere hämatolytische Wirkung entfalten.

Für einen Versuch, dessen Resultat in folgendem mitgeteilt werden soll, verwendeten wir je 2 ccm eines unverdünnten, dann

---

[1]) S. auch die Mitteilung in der Pester med. chir. Presse **1907**, Nr. 17.

eines 3-, 5-, 7-, 10-, 12-, 15-, 20- und 25-fach verdünnten Schweineblutserums, welche mit je 0,5 ccm inaktivierten Kaninchenserums und je 1 ccm einer aus gewaschenen Schweineblutkörperchen dargestellten 5prozentigen Blutkörperchenemulsion zusammengebracht wurden. Diese Mischungen wurden ½ Stunde lang im Thermostaten (37°) gehalten, dann zentrifugiert. In den abzentrifugierten Lösungen wurde das Hämoglobin mit dem Fleischl-Miescherschen Apparat mit der Modifikation, wie sie der eine von uns vor einiger Zeit angegeben hat (Deutsche med. Wochenschr. **1906**, Nr. 7), quantitativ mit folgendem Resultate bestimmt:

1. Mischung mit unverdünntem Schweineblutserum = 196,7 Grade des Hämometers,
2. „ „ 3-fach verdünntem Schweineblutserum = **245,0** Grade des Hämometers,
3. „ „ 5-fach verdünntem Schweineblutserum = 180,0 Grade des Hämometers,
4. „ „ 7-fach verdünntem Schweineblutserum = 143,4 Grade des Hämometers,
5. „ „ 10-fach verdünntem Schweineblutserum = 72,5 Grade des Hämometers,
6. „ „ 12-fach verdünntem Schweineblutserum = 47,7 Grade des Hämometers,
7. „ „ 15-fach verdünntem Schweineblutserum = 33,2 Grade des Hämometers,
8. „ „ 20-fach verdünntem Schweineblutserum = 14,8 Grade des Hämometers,
9. „ „ 25-fach verdünntem Schweineblutserum = 11,7 Grade des Hämometers.

Die angegebenen Grade sind überall Mittel aus 10 Ablesungen.

Schon hier sieht man, daß 2 ccm eines 3-fach verdünnten Schweineserums den Hämoglobingehalt (also die Hämolyse), bei gleichem Gehalt der Mischung an Immunkörper, gegen die gleiche Menge unverdünnten Serums um rund 24% gesteigert hat, und daß ein fünffach verdünntes Serum nur um ein geringes weniger wirksam war als das unverdünnte.

Berechnet man nun, wie sich das Verhältnis der Hämoglobinmengen gestalten würde, wenn man auf das angewendete Blut-

körperchen-Immunserumgemisch nicht nur den aliquoten Teil = 2 ccm der verdünnten Sera hätte einwirken lassen, sondern stets die ganze, überall gleiche Menge Normalserums, jedoch in den oben angegebenen Verdünnungen, so erhält man folgende Zahlen:

Nr. 1. 196,7,
„ 2. 245,0 × 3 = 735,
„ 3. 180,6 × 5 = 903,
„ 4. 143,4 × 7 = 1004,
„ 5. 72,5 × 10 = 725,
„ 6. 47,7 × 12 = 572,
„ 7. 33,2 × 15 = 498,
„ 8. 14,8 × 20 = 296,
„ 9. 11,7 × 25 = 292.

Das Maximum der hämatolytischen Wirkung ist hier in Nr. 4 mit 1004 erreicht. Von da sehen wir wieder stetige Abnahme.

Bei der Ausführung derartiger Versuche hat man darauf zu achten, daß die Blutkörperchen im Überschuß vorhanden seien, so daß ein Teil wenigstens bei der Dauer des Versuches unhämolysiert bleibt; der Hämoglobingehalt von Proben, in denen komplette Hämolyse eintrat, kann natürlich nicht als Maßstab für die ganze hämatolytische Kraft des betreffenden Gemisches gelten. Um die Unterschiede im Hämoglobingehalt recht deutlich, schon für das Auge sichtbar hervortreten zu lassen, empfiehlt es sich ferner, die Menge des inaktivierten Immunserums, besonders wenn es reich an Immunkörper ist, möglichst klein zu wählen. Ein solcher, selbst zu Demonstrationszwecken geeigneter Versuch war z. B. der folgende: Je 0,1 ccm eines inaktivierten Kaninchenimmunserums wurden mit je 2 ccm eines unverdünnten, dann eines 3-, 5-, 10-, 15- und 20-fach verdünnten Normalschweineserums, sowie mit je 1 ccm einer 5prozentigen Schweineblutkörperchenemulsion vermischt.

Die Mischungen wurden eine Stunde lang im Thermostaten gehalten, dann abzentrifugiert. Der Hämoglobingehalt der einzelnen Proben war, in Graden des Hämometers ausgedrückt, folgender:

1. Mischung mit unverdünntem Normalserum = 26,6,
   umgerechnet auf gleiche Menge Normalserum = 26,6;

2. Mischung mit 3-fach verd. Normalserum = 72,0,
umgerechnet auf gleiche Menge Normalserum = 216,0;
3. Mischung mit 5-fach verd. Normalserum = 80,0,
umgerechnet auf gleiche Menge Normalserum = 400,0;
4. Mischung mit 10-fach verd. Normalserum = 39,0,
umgerechnet auf gleiche Menge Normalserum = 390,0;
5. Mischung mit 15-fach verd. Normalserum = 26,2,
umgerechnet auf gleiche Menge Normalserum = 393,0;
6. Mischung mit 20-fach verd. Normalserum = 13,4,
umgerechnet auf gleiche Menge Normalserum = 268,0.

Wie schon oben erwähnt wurde, glauben wir diese Erscheinungen wie folgt erklären zu können:

Das Komplement ist ein Körper, der mit wachsender Verdünnung in wirksame Komponenten gespalten wird (Hydrolyse, Dissoziation) und zwar so stark, daß die durch die Verdünnung verminderte Reaktionsgeschwindigkeit überkompensiert wird.

Ist das Maximum der Spaltung erreicht, so findet eine Abnahme der Hämoglobinmenge nur mehr im Verhältnis der Verdünnung statt.

Legen wir, um diese Annahme zu prüfen, der Berechnung den Hämoglobingehalt der 10-fach verdünnten Serummischung = 725 zugrunde (siehe den ersten Versuch), so finden wir

für die 12-fache Verdünnung berechnet = 604 (gefunden = 572),
„ „ 15- „ „ „ = 486 („ = 498),
„ „ 20- „ „ „ = 362 („ = 296),
„ „ 25- „ „ „ = 290 („ = 292).

Die berechneten und gefundenen Werte stimmen also in der Mehrzahl der Fälle recht gut, besonders wenn wir die zahlreichen Fehlerquellen berücksichtigen.

Versuche, bei welchen den Immunkörper — gleich den obigen Versuchen — das Serum von gegen Schweineblutkörperchen immunisierte Kaninchen, das Komplement aber Rinderblutserum lieferte, fielen zwar im Prinzip den obigen ganz ähnlich aus, wiesen aber auch manche Abweichungen auf.

In dem folgenden Versuche enthielten die Mischungen je 0,25 ccm eines inaktivierten Immunserums (gewonnen von einem gegen Schweineblutkörperchen immunisierten Kaninchen), sowie

je 2 ccm eines unverdünnten, dann eines 3-, 5-, 10-, 15-, 20- und 25-fach verdünnten Rinderblutserums. Nach Zufügen von je 2 ccm einer 5prozentigen Schweineblutkörperchenemulsion verblieben die Proben $^3/_4$ Stunden im Thermostaten. Da das Rinderblutserum selbst hämolytisch auf Schweineblutkörperchen wirkt, so wurde ein Kontrollversuch angestellt, bestehend aus Proben, welche anstatt des Immunserums 0,25 ccm physiologischer Kochsalzlösung enthielten, sonst aber den obigen ganz ähnlich zusammengesetzt waren. Beide Versuchsreihen wurden gleichzeitig und gleich lange im Thermostaten gehalten, dann in den abzentrifugierten Lösungen der Hämoglobingehalt bestimmt. Die in dem Kontrollversuche ermittelten Zahlen wurden von den in den entsprechenden Gliedern der eigentlichen Versuchsreihe gefundenen Werten in Abzug gebracht (korrigierte Zahlen). Durch diese Korrektion erleidet übrigens das Resultat des Versuches keine wesentliche Änderung.

A. Mischungen von je 0,25 ccm Immunserum und von je 2 ccm Rinderblutserum.

1. Unverdünntes Rinderblutserum = 245 Gr. des Hämometers,
2. 3-fach verd. „ = 170,0 „ „ „
3. 5- „ „ „ = 90,8 „ „ „
4. 10- „ „ „ = 77,2 „ „ „
5. 15- „ „ „ = 108,0 „ „ „
6. 20- „ „ „ = 93,3 „ „ „
7. 25- „ „ „ = 105,0 „ „ „

B. Mischungen von je 0,25 ccm Kochsalzlösung und von je 2 ccm Rinderblutserum.

1. Unverdünntes Rinderblutserum = 136,2 Gr. des Hämometers,
2. 3-fach verd. „ = 56,8 „ „ „
3. 5- „ „ „ = 31,5 „ „ „
4. 6-, 7-, 10-, 15-, 20-, 25-fach verdünntes Rinderblutserum = 0 Gr. des Hämometers.

C. Korrigierte Zahlen.

1. 108,9, umgerechnet auf gleiche Mengen unverdünntes Rinderblutserum = 108,8,
2. 113,2, „ „ „ Mengen unverdünntes Rinderblutserum = 339,6,

3. 59,3, umgerechnet auf gleiche Mengen unverdünntes Rinderblutserum = 296,5,
4. 77,2, ,, ,, ,, Mengen unverdünntes Rinderblutserum = 772,0,
5. 108,0, ,, ,, ,, Mengen unverdünntes Rinderblutserum = 1620,0,
6. 93,3, ,, ,, ,, Mengen unverdünntes Rinderblutserum = 1866,0,
7. 105,0, ,, ,, ,, Mengen unverdünntes Rinderblutserum = 2625,0.

Betrachten wir nun die korrigierten (nicht umgerechneten) Zahlen (auf Grund des wirklichen Befundes kommt man übrigens zu ganz ähnlichen Schlüssen), so finden wir in den ersten zwei Proben fast konstante Werte, dann folgt (in Nr. 3) eine starke Abnahme, von da ab wieder eine stetige Zunahme der Hämatolyse welche nur durch Nr. 6 eine geringe Störung erfährt.

In dem zweiten Teile des Versuches begegnen wir also derselben Erscheinung, die wir in jenen Versuchen beobachtet haben, in welchen das Komplement von Schweineblutserum geliefert wurde. In dem ersten Teil der Versuchsreihe, bei geringerer Verdünnung, weist aber das Rinderblutserum ein vom Schweineblutserum abweichendes Verhalten auf. (Der Unterschied ist bei den umgerechneten Werten nicht mehr so auffallend.) Wir glauben diese Erscheinungen folgenderweise erklären zu dürfen:

Auch das Komplement des Rinderblutserums ist ein Körper, der bei wachsender Verdünnung seiner Lösungen in hämatolytisch wirksame Komponenten zerfällt. Nur kommt die hierdurch bedingte stärkere Wirkung erst bei größeren Verdünnungen zum Vorschein und wird bei geringeren Verdünnungen durch die verminderte Reaktionsgeschwindigkeit überkompensiert. Der Unterschied zwischen beiden (vielleicht auch anderen) Komplementen ist also kein prinzipieller und mag vielleicht auf einer — für die einzelnen Blutarten charakteristischen — mehr oder minder leichten Spaltbarkeit der verschiedenen Komplemente beruhen.

Es sei noch erwähnt, daß wir auch Versuche ausgeführt haben, in denen das Serum von gegen Rinderblutkörperchen immunisierten Kaninchen den Immunkörper, und Rinderblut- resp. Schweineblutserum das Komplement lieferten. Die Mischungen ließen wir dann auf Rinderblutkörperchen einwirken. Diese Ver-

suchsanordnung erwies sich aber für unsere Zwecke als ungeeignet. Während nämlich in den früher beschriebenen Versuchen — wenigstens bei der von uns gewählten Zusammensetzung der Mischungen — keine derartig starke Agglutination eintrat, daß sie das Austreten des gelösten Hämoglobins hätte verhindern können (die Blutkörperchenklümpchen ließen sich durch mäßig starkes Schütteln der Mischung stets ziemlich leicht gleichmäßig verteilen), entstanden in den mit Rinderblutkörperchen und dem entsprechenden Immunserum ausgeführten Proben außerordentlich feste, zähe, agglutinierte Massen, die durch noch so energisches Schütteln nicht verteilt werden konnten.

Nach Abzentrifugieren erhielten wir dann fast farblose Flüssigkeiten, die sich aber um so deutlicher rot färbten, je länger und gründlicher die Blutkörperchenmasse mit einem Glasstabe (in der Kälte) zerrieben wurde.

Wählt man die Menge des Immunserums so gering, daß die Blutkörperchen nur mehr schwach agglutiniert werden, so tritt, selbst wenn der Versuch auf mehrere Stunden ausgedehnt wird, keine Hämatolyse mehr auf.

Wir stellen uns nun die Frage, welchen Einfluß die Verdünnung auf den Immunkörper ausübt. Um diese Frage beantworten zu können, haben wir Versuche mit konstanten Komplementmengen und mit Verdünnungen inaktivierten Immunserums ausgeführt. Zu dem folgenden Versuch dienten je 1 ccm eines unverdünnten, resp. 2- und 4-fach verdünnten inaktivierten Immunserums (gewonnen von einem gegen Schweineblutkörperchen immunisierten Kaninchen), welche, mit je 2 ccm einer 5 prozentigen Schweineblutkörperchenemulsion zusammengebracht, 1½ Stunden lang im Thermostaten gehalten wurden.

Die Resultate der Hämoglobinbestimmungen waren folgende:

1. Unverdünntes Immunserum = 246,
2. 2-fach verd. „ = 125,
3. 4- „ „ „ = 55

(Bei weiteren Verdünnungen trat keine Hämolyse auf).

Die Abnahme der Hämatolyse ist also der Verdünnung annähernd proportional.

Umgerechnet auf gleiche Mengen Immunkörpers geben diese Zahlen folgendes:

1. = 246,
2. = 250,
3. = 220.

Gleiche Mengen Immunkörpers wirken also, unabhängig von der Verdünnung, annähernd gleich. Ein Einfluß der durch die Verdünnung verminderten Reaktionsgeschwindigkeit läßt sich in diesem Versuche nicht konstatieren, wohl aber in dem folgenden, zu welchem je 0,5 ccm eines unverdünnten, dann eines 2- und 4-fach verdünnten Immunserums, je 2 ccm eines Schweineblutserums sowie je 2 ccm einer 5 prozentigen Schweineblutkörperchenemulsion verwendet wurden. Die Mischungen verblieben ½ Stunde lang im Thermostaten. Die Hämoglobinbestimmungen lieferten folgende Zahlen:

1. Unverdünntes Immunserum = 191,
2. 2-fach verd. „ = 78,8,
3. 4- „ „ „ = 16,6.

Umgerechnet auf gleiche Mengen unverdünnten Immunserums:

1. = 191,
2. = 157,
3. = 66,

Der Immunkörper verhält sich also in verdünnten Lösungen ganz anders als das Komplement.

Wir ziehen hieraus den Schluß, daß der Immunkörper (Amboceptor) ein Stoff ist, welcher bei der Verdünnung seiner Lösungen keine derartige Spaltung erfährt, wie wir sie für das Komplement annehmen.

Bevor wir diesen Teil unserer Mitteilung abschließen, sei es noch bemerkt, daß wir auch solche Versuche ausgeführt haben, in welchen wir normales Schweineblutserum (ohne Zusatz von Immunserum) in verschiedenen Verdünnungen 2—3 Stunden lang bei 37° auf Schweineblutkörperchen einwirken ließen, ohne jemals eine Spur von Hämatolyse beobachtet zu haben.

Fügt man einem normalen Schweineblutserum so viel $^1/_{100}$ norm. HCl hinzu, daß das Gemisch nur mehr ganz schwach alkalisch (gegen Lackmus) reagiert, und läßt man dasselbe unverdünnt sowie in verschiedenen Verdünnungen auf Schweineblutkörperchen (bei 37°) einwirken, so tritt nach mehreren Stunden in der Probe mit unverdünntem Serum-Salzsäuregemisch gewöhnlich Hämatolyse ein, welche aber bei den Verdünnungen ausbleibt.

Die erhöhte Wirksamkeit des verdünnten Normalserums kommt also nur in Gegenwart eines Immunkörpers zur Geltung.

II. Einfluß der Verdünnung auf künstliches Normalserum und auf künstliches inaktiviertes Immunserum.

Es soll an folgende Ergebnisse der eingangs zitierten Untersuchungen erinnert werden. Die hämatolytische Wirkung einer 1‰-igen Natronseifenlösung (in physiologischer Kochsalzlösung) wird durch Zusatz von entsprechenden Mengen einer konzentrierten Lösung von Serumalbumin (ebenfalls in physiologischer NaCl-Lösung) aufgehoben. Fügt man einer solchen Mischung so viel Ölsäure (in physiologischer NaCl-Lösung suspendiert) hinzu, welche für sich keine hämatolytische Wirkung entfaltet, so erhält man ein stark hämatolytisch wirkendes Gemenge. Dieses kann durch Erhitzen auf 56° (oder besser 60°) inaktiviert und durch Zusatz von entsprechenden Mengen eines (für sich unwirksamen) Seife-Serumalbumingemisches reaktiviert werden. Es ist nicht zu verkennen, daß bei diesem Vorgang das erhitzte Gemenge von Ölsäure-Seife-Serumalbumin die Rolle eines inaktivierten Immunserums, das Gemenge von Seife-Serumalbumin diejenige eines Normalserums spielt. Es soll daher in dem Nachstehenden das erstere Gemenge „künstliches inaktiviertes Immunserum“, das letztere „künstliches Normalserum“ genannt werden.

Wir untersuchten nun den Einfluß der Verdünnung auf diese künstliche Sera in derselben Weise, wie im ersten Abschnitt dieser Mitteilung angegeben wurde.

Bezüglich der Ausführung der Versuche sei folgendes bemerkt: Mit Rücksicht auf die Veränderlichkeit der benutzten Lösungen (Ölsäure, Seife, Serumalbumin) müssen sie oft frisch bereitet werden, und da die einzelnen Bereitungen nie ganz gleich aus-

fallen, so ist es unerläßlich, bei Herstellung der künstlichen Sera die passenden Mengenverhältnisse für jede Versuchsreihe neuerdings zu ermitteln. Es ist dann ratsam, mit denselben Seris sämtliche geplante Versuche ununterbrochen, im Laufe eines Tages, auszuführen.

Im Folgenden soll der Verlauf einer solchen Versuchsreihe beschrieben werden. Bei der Herstellung der künstlichen Sera wurden folgende Mengenverhältnisse als passende ermittelt.

1. Künstliches Normalserum = gleiche Mengen einer 1‰-igen Seifenlösung und einer konzentrierten Serumalbuminlösung.

2. Künstliches Immunserum = je 2 Teile der obigen Seifen- und Albuminlösung und 1 Teil Ölsäureemulsion (0,029% Ölsäure enthaltend).

Versuch:

a) 2 ccm des künstl. Normalserums + 2 ccm einer 10 proz. Schweineblutkörperchenemulsion,

b) 2,5 „ „ „ Immunserums + 2 ccm einer 10 proz. Schweineblutkörperchenemulsion,

c) 2,5 „ „ „ Immunserums bei 60° inaktiviert + 2 ccm Schweineblutkörperchenemulsion,

d) 2,5 „ „ „ Immunserums bei 60 inaktiviert + 1 ccm künstl. Normalserum + 2 ccm Blutkörperchenemulsion.

Sämtliche Proben wurden 1 Stunde lang im Thermostaten gehalten, dann abzentrifugiert. In a) und c) keine Hämatolyse, in b) und d) starke Hämatolyse.

Zu dem folgenden Versuch wurden je 2,5 ccm des inaktivierten künstlichen Immunserums, je 1 ccm des unverdünnten, sowie des 2-, 4-, 8- und 16-fach verdünnten künstlichen Normalserums, und je 2 ccm einer 10 prozentigen Schweineblutkörperchenemulsion verwendet. Die Mischungen verblieben ½ Stunde lang im Thermostaten. In den abzentrifugierten Lösungen wurde das Hämoglobin mit folgendem Resultate bestimmt:

1. Mischung mit unverd. künstl. Normalserum = 762, umgerechnet = 762,

2. „ „ 2-fach verd. Normalserum = 318, umgerechnet = 636,

3. „ „ 4- „ „ Normalserum = 159, umgerechnet = 636,

4. Mischung mit 6-fach verd. Normalserum = 254,
umgerechnet = 2032,
5. „ „ 8- „ „ Normalserum = 154,5,
umgerechnet = 2472.

Betrachten wir die direkt gefundenen Zahlen, so sehen wir von 1.—3. ein rasches Sinken der Hämoglobinmengen, in Nr. 4 folgt dann ein steiler Anstieg und in Nr. 5 wirkte das 8-fach verdünnte Komplement genau so stark, wie in Nr. 3, das nur 4-fach verdünnte.

Wir begegnen hier also denselben Erscheinungen, die wir in den mit Verdünnungen von Rinderblutserum ausgeführten Versuchen beobachtet haben.

In dem folgenden Versuch enthielten die Mischungen neben konstanten Mengen (je 1 ccm) des künstlichen Normalserums je 2,5 ccm des unverdünnten, dann eines 2-, 4-, 6- und 8-fach verdünnten künstlichen, inaktivierten Immunserums, sowie je 2 ccm einer 10prozentigen Blutkörperchenemulsion. Nach ½-stündigem Verweilen im Thermostaten ergaben die Proben folgende Hämoglobinwerte.

1. Mischung mit unverd. künstl. inakt. Immunserum = 760,
umgerechnet = 760,
2. „ „ 2-fach verd. Immunserum = 39,6,
umgerechnet = 79,2,
3. 4. 5. Mischung mit 4-, 6- u. 8-fach verd. Immunserum = 0,
umgerechnet = 0.

Auch das künstliche Immunserum verhält sich also bei der Verdünnung ganz ähnlich wie das wirkliche (Kaninchen-) Immunserum.

In dem folgenden Versuch ließen wir endlich je 1 ccm des unverdünnten, sowie des 2-, 4-, 6- und 8-fach verdünnten künstlichen Normalserums allein (ohne Immunserum) auf je 2 ccm einer 10prozentigen Blutkörperchenemulsion einwirken. Nach 2-stündigem Verweilen im Thermostaten waren sämtliche Flüssigkeiten farblos; die abzentrifugierten Blutkörperchen wurden in der Flüssigkeit (durch starkes Schütteln) wieder gleichmäßig verteilt und die Proben noch 1 Stunde lang im Thermostaten gehalten. Nun trat in der Probe mit unverdünntem Serum eine

schwache Hämatolyse auf, alle anderen Proben blieben aber ungefärbt.

Auch in dieser Hinsicht verhält sich also das künstliche Normalserum dem wirklichen ganz ähnlich.

Da nun die beschriebenen Erscheinungen sich in allen einschlägigen Versuchen in derselben Weise wiederholt haben, so können wir wohl aussagen, daß zwischen einem inaktivierten Ölsäure - Seifen - Serumalbumingemisch und einem inaktivierten hämatolytischen Immunserum einerseits, einem Seifen - Serumalbumingemisch und einem Normalserum andererseits, auch bezüglich ihres Verhaltens in verdünnten Lösungen eine weitgehende Analogie besteht.

Mit dieser Feststellung glauben wir aber weitere Beweise für die Richtigkeit unserer — eingangs erwähnten — Annahme über die Natur des hämolytischen Immunkörpers und der Komplemente erbracht zu haben[1]).

Nachtrag.

Von **L. v. Liebermann.**

Vor einiger Zeit erschien eine Arbeit über Lipolyse, Agglutination und Hämolyse von C. Neuberg und E. Rosenberg (Berl. klin. Wochenschr. **1907**, Nr. 2), welcher vor kurzem eine zweite unter demselben Titel von C. Neuberg und C. Reicher (diese Zeitschr. **4**, 281) gefolgt ist.

Diese Arbeiten scheinen mir zu wichtig, um nicht, trotz zahlreicher noch unerledigter Vorfragen, schon jetzt auf gewisse Beziehungen aufmerksam zu machen, die die Befunde der eben zitierten Forscher zu meinen Versuchen und Vorstellungen über

[1]) Vor kurzem berichteten Sachs und Teruuchi über Versuche (Die Inaktivierung der Komplemente im salzfreien Medium. Berl. klin. Wochenschr. **1907**, Nr. 16, 17 u. 19), die insofern gewisse Ähnlichkeiten mit den unsrigen aufweisen, als auch jene mit verdünnten Normalseris ausgeführt wurden. Mit Rücksicht auf die Verschiedenheit der verfolgten Frage und demgemäß auch der abweichenden Versuchsanordnung läßt es sich kaum beurteilen, wieweit oder ob überhaupt die Befunde von Sachs und Teruuchi und die unsrigen sich gegenseitig berühren.

die Vorgänge bei der Hämatolyse sowie zu den übereinstimmenden Versuchen von H. Noguchi (l. c.) über die Natur gewisser Komplemente haben. Auch scheint es mir, daß die Arbeiten von Neuberg und Reicher meine und Noguchis Versuche in einer neuen Beleuchtung erscheinen lassen, indem sie nun auch auf eine Quelle jener Verbindungen hinweisen, welche bei der Hämatolyse eine Rolle spielen.

Neuberg und seine obengenannten Mitarbeiter haben gefunden, daß gewisse pflanzliche Gifte (Crotin, Ricin) sowie tierische, welche zugleich Hämolysine sind oder solche enthalten (Cobra-, Crotalus-, Mocassin-, Bienengift), ein deutliches lipolytisches Vermögen besitzen. Andererseits haben sie auch nachgewiesen, daß gewisse Enzymlösungen, wie Magen- und Pankreassaft, die bekanntermaßen mehr oder weniger wirksame Lipasen enthalten, hämatolytisch wirken.

Die Frage, ob den erwähnten Giften selbst ein Fettspaltungsvermögen zukommt, oder ob gewisse Lipasen ihre ständigen Begleiter sind, muß einstweilen als unentschieden gelten, aber so viel steht fest, daß überall dort, wo sie vorhanden sind und wo durch Gegenwart verseifbarer Fette und Lipoide die Gelegenheit zur Bildung freier Fettsäuren und Seifen gegeben ist, auch Hämatolyse eintritt. Ist die Menge der Fettsäuren groß genug, so genügen sie bekanntlich schon allein, um Hämatolyse hervorzurufen; sind zersetzbare Alkaliverbindungen zugegen, so entstehen die hämatolytisch wirkenden Seifen; werden diese durch die Gegenwart von Proteinverbindungen inaktiviert, so genügt eine geringe Menge einer als Aktivator fungierenden Fettsäure, um sie wieder hämatolytisch zu machen. Daß diese Bedingungen zum Auftreten der Hämatolyse in den Versuchen von Neuberg und seinen Mitarbeitern sowie auch im Organismus überall gegeben sind, unterliegt keinem Zweifel, denn selbst den Fall angenommen, daß gewisse Flüssigkeiten, welche zu hämatolytischen Versuchen verwendet werden, absolut frei von Fetten, Lipoiden oder Seifen wären, blieben ja noch immer die Lipoide der Blutkörperchen selbst, die von den Lipasen unter Bildung ähnlicher Produkte zersetzt werden können, was Neuberg und Reicher, Bakterien betreffend, mit den Worten ausdrücken, daß die lipolytischen Sera die Bakterien ihrer schützenden Lipoidhülle berauben.

Eine erhöhte Bedeutung erhält all dies durch die höchst interessante Entdeckung von Neuberg und Reicher, daß auch gewisse bactericide Sera ein Fettspaltungsvermögen besitzen, welches beim Erhitzen verloren geht; ferner daß die normalen Sera (vom Pferde und Schwein) kein solches besitzen. Die genannten Forscher bringen diesen Befund mit den Beobachtungen von Metalnikoff sowie von Deycke-Pascha und Reschad-Bey in ungezwungenen Zusammenhang.

Ich denke, die soeben erwähnte Entdeckung von Neuberg und Reicher berechtigt uns die Frage zur Diskussion zu stellen, ob bei gewissen immunisatorischen Vorgängen nicht die Lipolyse das Primäre ist, indem sie durch Spaltung der Fette und Lipoide erst jene Stoffe — Fettsäuren und seifenartige Verbindungen — erzeugt, welche nach den Versuchen, auf die ich mich eingangs dieser Zeilen bezogen habe, die Rolle von Amboceptoren und Komplementen spielen können. Ähnliches scheinen auch Neuberg und Reicher zu denken, wenn sie am Schlusse ihrer Abhandlung sagen, daß weitere Versuche lehren müssen, ob wirklich bei der spezifischen Hämatolyse und vielleicht auch bei der spez. Agglutination ein enzymatischer Verseifungsprozeß mit im Spiele ist. Sie machen darauf aufmerksam, daß hier auch an spezifische Lipasen gedacht werden kann, da eine solche Spezifizität bei lipolytischen Fermenten verschiedener Provenienz bereits beobachtet ist; denn in der Tat scheinen z. B. die Butyrinase von Hanriot, die Lipase des Darmsaftes (Boldineff), die Leberlipase von Dakin, das Steapsin des Pankreas sehr verschiedene und verschieden wirkende fettspaltende Fermente zu sein.

Über die hämatolytische Wirkung der Gallensäuren und ihrer Salze.

Von

B. v. Fenyvessy.

(Aus dem Hygienischen Institute der Universität Budapest [Direktor: Prof. Dr. L. v. Liebermann].)

(Eingegangen am 24. Juni 1907.)

In seiner Mitteilung über Hämatolyse und Agglutination[1]) hatte Prof. L. v. Liebermann darauf hingewiesen, daß unter gewissen Umständen vielleicht auch gallensaure Salze eine ähnliche Rolle, nämlich diejenige von hämatolytischen Komplementen spielen könnten, wie dies von ihm für die Seifen erwiesen wurde, da gallensaure Salze, wie seit den älteren, von Koloman Müller herrührenden Versuchen (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **1**, 213) bekannt, heftige Hämolysine sind.

Der Zweck der nachstehenden Versuche war, festzustellen, wieweit die Gallensäuren resp. ihre Salze bezüglich ihrer hämatolytischen Wirkung mit der Ölsäure resp. den Seifen Ähnlichkeiten aufweisen.

Es wurde zunächst die hämatolytische Wirksamkeit der Taurocholsäure sowie des glykocholsauren und taurocholsauren Natrons in $1^0/_{00}$-igen (mit physiologischer Kochsalzlösung bereiteten) Lösungen bestimmt (Glykocholsäure löst sich in dieser Konzentration nicht).

Läßt man diese Lösungen bei 37° gleich lange Zeit auf gewaschene Schweineblutkörperchen (in 10 prozentiger Emulsion) einwirken, so tritt Hämatolyse ein, und zwar wirken 1,0 ccm der glykocholsauren Natron-, 3,0 ccm des taurocholsauren Natron- und 0,2 ccm der Taurocholsäurelösung ungefähr gleich stark.

---

1) Diese Zeitschr. **4**, 25.

Ich verwendete nun zu den weiteren Versuchen glykocholsaures Natron und Taurocholsäure und untersuchte ihr Verhalten gegenüber denselben Zusätzen und sonstigen experimentellen Eingriffen, deren Einfluß auf Seife und Ölsäure teils durch die eingangs erwähnten, teils durch neuere, unter meiner Mitwirkung ausgeführte Versuche von Prof. v. Liebermann festgestellt wurde. In sämtlichen Versuchen spielte das glykocholsaure Natron die Rolle der Seife, die Taurocholsäure diejenige der Ölsäure.

1. Die hämatolytische Wirkung des glykocholsauren Natrons und der Taurocholsäure wird durch Zusatz einer konzentrierten Serumalbuminlösung aufgehoben.

Versuch I:

1. Acid. taurochol. 0,5 ccm
2. „ „ 0,5 „ + physiol. NaCl-Lösung 0,2 ccm,
3. „ „ 0,5 „ + konz. Serumalbuminlösg. 0,2 „
4. Na. glycochol. 2,0 „
5. „ „ 2,0 „ + NaCl-Lösung 0,2 „
6. „ „ 2,0 „ + Serumalbuminlösung 0,2 „

Nach Zusatz von je 2 ccm einer 10prozentigen Schweineblutkörperchenemulsion verblieben die Proben 1 Stunde lang im Thermostaten. Resultat: in Nr. 1 und 2 starke, in Nr. 4 und 5 komplette Hämatolyse, in Nr. 3 und 6 keine Spur von Hämatolyse.

2. Fügt man einer durch Eiweißzusatz inaktivierten Lösung von glykocholsaurem Natron ein ebenfalls inaktives Taurocholsäureeiweißgemenge zu, so erhält man eine hämatolytisch stark wirksame Mischung.

Versuch II:

1. Acid. taurochol. 0,2 ccm + Serumalbumin 0,1 ccm,
2. Natr. glykochol. 2,0 „ + „ 0,3 „
3. Acid. taurochol. 0,2 + Natr. glykochol. 2,0 + Serumalb. 0,4.

Sämtliche Proben wurden mit je 2 ccm einer 10prozentigen Blutkörperchenemulsion vermischt, 1 Stunde lang im Thermostaten gehalten, dann abzentrifugiert. Resultat: in Nr. 1 und 2 keine, in Nr. 3 starke Hämatolyse.

3. Ein hämatolytisch wirksames Gemenge von Taurocholsäure-glykocholsaurem Natron-Serumalbumin wird durch ½-stün-

diges Erhitzen auf 56° (besser 60°) inaktiviert, durch Zusatz eines inaktiven Gemisches von glykocholsaurem Natron und Serumalbumin aber reaktiviert. Das zuerst erwähnte Gemenge spielt also hier die Rolle eines Immunserums, das letztere diejenige eines Normalserums. Das erstere bezeichnen wir daher in den nachstehenden Versuchen künstliches Immunserum (KJ resp. KJ_{56}), das letztere künstliches Komplement (KK).

Versuch III:

KJ = 20 T. glykochols. Natr. + 2 T. Taurocholsäure
+ 4 T. Serumalbumin,
KK = 20 T. „ „ + 3 T. Serumalbumin.

1. KJ 2,6 ccm + NaCl-Lösung 2,3 ccm,
2. KJ_{56} 2,6 „ + „ „ 2,3 „
3. KJ_{56} 2,6 „ + KK 2,3 ccm,
4. NaCl-Lösung 2,6 + KK 2,3 ccm.

Sämtliche Proben werden mit je 2 ccm einer 10prozentigen Blutkörperchenemulsion vermischt. Versuchsdauer (bei 37°) 1 Stunde. Resultat: Nr. 1 starke, Nr. 3 fast komplette, Nr. 2 und Nr. 4 keine Hämatolyse.

In allen diesen Versuchen verhielten sich also das glykocholsaure Natron resp. die Taurocholsäure genau so, wie dies unter den gleichen Versuchsbedingungen für die Seife resp. für die Ölsäure von L. v. Liebermann festgestellt wurde.

Ich untersuchte nun den Einfluß der Verdünnung auf das obige künstliche Immunserum resp. auf das obige künstliche Komplement.

Versuch IV:

Die Proben enthielten je 2,6 ccm des unverdünnten KJ, sowie je 2—3 ccm des unverdünnten, dann des 2-, 4- und 8-fach verdünnten KK. Nach Zusatz von je 2 ccm einer 10prozentigen Blutkörperchenemulsion verblieben die Proben 1 Stunde lang im Thermostaten. In den abzentrifugierten Lösungen wurde der Hämoglobingehalt mit folgendem Resultate bestimmt:

1. Mischung mit unverdünntem KK = 289, umgerechnet auf
gleiche Mengen unverdünnt. KK = 289,
2. „ „ 2-fach verd. KK = 85, umgerechnet auf
gleiche Mengen unverdünnt. KK = 170,

3. Mischung mit 4-fach verd. KK = 23, umgerechnet auf gleiche Mengen unverdünnt. KK = 46,
4. „ „ 8-fach verd. KK = 0, umgerechnet auf gleiche Mengen unverdünnt. KK = 0.

Versuch V:

Die Proben enthielten je 2—3 ccm des unverdünnten KK, sowie je 2,6 ccm des unverdünnten, dann des 2-, 4- und 8-fach verdünnten KJ. Alles übrige wie in Versuch IV. Resultat:

1. Mischung mit unverd. KJ = 280,
2., 3., 4. Mischung mit 2-, 4- 8-fach verd. KJ = 0.

Mit der Verdünnung nimmt also die Wirksamkeit sowohl des KK wie auch diejenige des KJ rasch ab.

In dieser Hinsicht weist also das glykocholsaure Natron ein von demjenigen der Seife und des Normalserums abweichendes Verhalten auf (s. vorstehende Mitteilung über die Wirkung der Verdünnung auf Sera).

Über eine neue Methode zur Ausfällung des reinen Caseins aus der Frauenmilch durch Säure und Lab sowie über die Natur der labhemmenden Wirkung der Frauenmilch.

Von

E. Fuld und J. Wohlgemuth.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität zu Berlin.)

(Eingegangen am 26. Juni 1907.)

Seitdem zuerst von Biedert (1) die mangelhafte Fällbarkeit der Frauenmilch durch Säure gefunden war, wurde die Ursache dieser Erscheinung namentlich auch von pädiatrischer Seite wiederholt zum Gegenstand von Untersuchungen gemacht, großenteils in der Meinung, es liege in dem verschiedenen Verhalten des Frauencaseins und des Kuhcaseins gegen Säure, namentlich aber gegen Lab die Begründung für die Tatsache der besseren Bekömmlichkeit der Frauenmilch für den Säugling. Man schuldigte für diese Unterschiede mancherlei Faktoren an. Während die Mehrzahl der Autoren wohl auch heute noch daran festhält, daß es sich um eine Verschiedenheit der beiden Caseine handelt, gaben andere ihre Meinung dahin ab, daß der Unterschied in der Zusammensetzung der Molken seinen Grund habe. In ersterer Richtung ist zuvörderst eine Arbeit von Kobrak (2) zu nennen, der zu dem Resultat gelangte, daß in dem Frauencasein ein im wesentlichen dem Kuhcasein analoger Komplex enthalten sei, gebunden jedoch an eine Substanz, welche sich seiner Ausfällung widersetzt und deren Abspaltung gelinge, wenn man die angesäuerte Lösung der Dialyse unterwirft. Bei der Wiederholung des gleichen Vorgehens resultiere ein Niederschlag, der in seinen Eigenschaften von Mal zu Mal dem Kuhcasein ähnlicher werde.

Andere hatten im Gegensatz dazu teils die stärkere Verdünnung der Frauenmilch verantwortlich gemacht oder ihre stärker alkalische Reaktion, alles Punkte, die natürlich nur für

die Beurteilung der mangelhaften Labfähigkeit, nicht aber bei der schlechten Säurefällbarkeit mitsprechen können. Unter Berufung auf Versuche Szydlowskys (3), welche sich mit der Hemmung der Labgerinnung der Kuhmilch durch Frauenmilchzusatz beschäftigen, gab der eine von uns (4) dem Gedanken Ausdruck, es möchte sich gleichzeitig um eine direkte Antilabwirkung handeln, eine Annahme, die um so ansprechender scheinen mußte, als sie gleichzeitig auch das Fehlen der Labfähigkeit bei Stuten und Schweinen erklärte, Spezies, die ebenso wie der Mensch in ihrem Blutserum ein Antilab führen. Dieser Ansicht hat sich in der Folge auch Moro (5) angeschlossen.

Es sei mehr beiläufig daran erinnert, daß gewissermaßen als praktische Schlußfolgerung aus all diesen Erörterungen der Versuch auftauchte, eine Kuhmilch von den Gerinnungseigenschaften der Frauenmilch herzustellen, da damit dann auch zugleich deren gute Bekömmlichkeit verbürgt wäre. Es handelt sich dabei um das Pegninverfahren von Dungerns (6), das übrigens seine Vorläufer hatte in der Empfehlung des Zusatzes von Kindermehlen, die das Gerinnselkorn verkleinern sollten, in der Vorschrift starker Verdünnung der Kuhmilch, die dasselbe lockerer machen sollte u. dgl. mehr.

Nun, diese Alleinherrschaft des Caseins ist heutzutage glücklich gebrochen; nachdem man eine Zeitlang auf die Differenzen des Milchfettes ein großes Gewicht gelegt hatte und unter dem Eindruck der Präzipitinforschungen (7) später von dem Begriff des artfremden Eiweißes fasziniert worden war, hat endlich ganz neuerdings Ludwig F. Meyer (8) in einer Arbeit, auf die wir noch mehrfach zurückkommen müssen, obwohl sie erst nach der Gewinnung unserer wesentlichen Ergebnisse erschien, die Bahn der experimentellen Analyse beschritten und gezeigt, daß es auch mit der Arteigenheit allein nichts ist, indem das Casein, das vornehmste Antigen bei der Erzeugung von Laktoseris (9), allemal gut vertragen wird, daß dagegen die Molken von Frauen- und Kuhmilch sich in ihrer Zuträglichkeit wesentlich unterscheiden.

Mag nun auch das praktische Interesse der Fragen nach dem Verhalten des Frauencaseins gegenüber den Fällungsmitteln für das Kuhcasein etwas in den Hintergrund getreten sein, so haben wir doch in der Zwischenzeit nicht aufgehört, uns mit den Ursachen der konstatierten Unterschiede zu beschäftigen.

Auf dem Naturforscher- und Ärztekongreß zu Kassel konnte der eine von uns (10) berichten, daß es in einer großen Zahl von Fällen gelingt, durch bloßes Ausäthern einer vorher mit Säure nicht fallenden Frauenmilch diese Eigenschaft zu verleihen; wenn auch diese Veränderung keineswegs regelmäßig vor sich geht, so weist sie doch in Verbindung mit der Tatsache, daß auch an sich säurefällbare Frauenmilchproben sich gelegentlich finden, darauf hin, daß eine allgemein anwendbare Methode der Säurefällung sich ohne irgendwie schwereren Eingriff erreichen lassen muß. Aus hier nicht näher mitzuteilenden Gründen schien sich uns eine solche Methode zu eröffnen durch vorgängige Kältebehandlung der Frauenmilch. In der Tat erfüllte sich diese Aussicht, wenn auch in etwas anderer als der vorausgesetzten Weise.

Die Vorbehandlung der Frauenmilch durch Gefrierenlassen.

Wir versuchten zunächst jedesmal, ob es gelänge, die zur Untersuchung dienende Frauenmilchprobe ohne weitere Vorbehandlung durch vorsichtigen Zusatz von verdünnter Essigsäure auszufällen; in der Mehrzahl der Versuche verdünnten wir auch die Milch mit dem gleichen Volum destillierten Wassers. Nur ganz ausnahmsweise ließ sich nach mehrstündigem Stehen bei Zimmertemperatur eine Fällung konstatieren.

Alsdann setzten wir die Hauptmenge der Milch in den Gefrierschrank; als solcher diente uns dank der Liebenswürdigkeit Herrn Professor Morgenroths der von ihm konstruierte Gefrierschrank Frigo, von dem die bakteriologische Abteilung des Pathologischen Instituts ein Exemplar besitzt. Nach 24 Stunden bereits war die Milch meistens derart verändert, daß sie nach dem Auftauen sich durch Essigsäure fällen ließ; manche Proben jedoch verlangten eine doppelt so lange Gefrierdauer, ja schließlich sahen wir uns genötigt, um ganz sicher zu gehen, eine Gefrierzeit von drei Tagen vorzuschreiben; allerdings ist dies nicht erforderlich behufs Herstellung einer säurefällbaren Frauenmilch, sondern aus Gründen, die deren Reaktion mit Lab angehen. Ehe wir uns dieser Frage zuwenden, sei es uns in aller Kürze gestattet, einiger Versuche mit flüssiger Luft zu gedenken. Wir dachten nämlich, wenn möglich die Länge der Einwirkungszeit zu verkürzen durch Einführung extrem tiefer Temperaturen; diese Ver-

suche hatten durchaus keinen Erfolg, was für die Deutung der Natur der Kältewirkung von Interesse ist. Auf diese werden wir zurückkommen, nachdem wir der übrigen von uns gefundenen Tatsachen gedacht haben.

Das Verhalten genuiner und vorbehandelter Frauenmilch gegen Lab.[1])

Versucht man Frauenmilch durch Labextrakte zur Gerinnung zu bringen, so wird man keinen Erfolg sehen (außer unter Zuhilfenahme des Mikroskops), gleichviel, ob man sich der gewöhnlichen Art des Vorgehens bedient, oder des von Morgenrot eingeführten Kälteverfahrens (offenbar versehentlich nennt L. F. Meyer dieses Verfahren nach Korschun (11), dessen Versuche viel jünger sind als die Morgenroths (12) und auch die des einen von uns).

Dieser Erfolg wird wenigstens ersterenfalls durchaus nicht geändert, wenn man außer dem Ferment etwas Säure der Milch hinzufügt (es sei denn, daß es sich um eine an sich mit Säure fallende Probe handelt). Ebensowenig ist ein Zusatz von Calciumchlorid von Einfluß.

Nun hat L. F. Meyer in seiner mehrfach zitierten Arbeit gezeigt, daß bereits bei dem gewöhnlichen Morgenroth-Versuch (Labwirkung während Digestion in der Kälte, Gerinnung während einer kurzen nachfolgenden Erwärmung) sich an Frauenmilch eine Labgerinnung erzeugen lasse, wenn man nur die unerläßliche Neutralisation des Alkalis der Frauenmilch mittels einer geringen Menge Säure zu Hilfe nehme.

Maßgebend für diesen Erfolg ist seiner Meinung nach der Fortfall der schädigenden Wirkung der Bruttemperatur auf das Ferment.

---

[1]) In der Literatur (du Saar [13]) finden sich vereinzelte Angaben, daß menschliches Lab insbesondere solches von Säuglingen im Gegensatz zu Kälber-Labextrakten die menschliche Milch koaguliert. Wir haben mehrfach Gelegenheit gehabt, diese Ansicht zu bestätigen. Jedoch zeigte sich, daß nach der Neutralisation der Magensaft diese Eigenschaft verlor, während Kälberlab dieselbe erlangte, sobald man ihm die ursprüngliche Acidität des Magensaftes erteilte. Die Säuremengen sind erheblich größer als die in unsern Textversuchen zur Anwendung gekommen.

So interessant diese Feststellung nun auch für die Theorie der in Rede stehenden Vorgänge ist, so wenig kann man sich mit der vom Autor übrigens nicht als eigen vorgetragenen, sondern nur übernommenen Erklärung zufrieden geben.

Das Ferment, von dem ja ein großer Überschuß bei derartigen Versuchen anwesend zu sein pflegt, geht nicht zugrunde, im Gegenteil, es gelangt ja sogar bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung zur Wirkung, wie die mikroskopische Untersuchung der Milch ergibt; was fehlt, ist nur die grobkörnige, klebrige Beschaffenheit des Gerinnsels, und daß diese mit der Fermentwirkung nichts zu schaffen hat, das bedarf heute wohl keiner besonderen Ausführung mehr.

Die Wirkung der Kälte, welche ja in unseren und Meyers Versuchen als im Wesen gleich anzusehen sein dürfte, greift nicht am Ferment, sondern sozusagen am andern Hebelarm an, nämlich am Casein.

Stellen wir mit einer nach dem von uns ausgearbeiteten Verfahren behandelten Milch einen Labversuch an, und zwar in der ganz gewöhnlichen in der Käserei üblichen Weise, also im blutwarmen Wasserbad, so werden wir eine makroskopische Gerinnung so wenig feststellen können wie sonst. Im Gegensatz zu dem sonst gewohnten Verhalten jedoch, das für jede Probe überdies noch durch einen Kontrollversuch bestätigt wurde, finden wir eine momentane Ausfällung, wenn wir eine geringe Menge Säure in die der Labwirkung ausgesetzte Milchprobe, also nachträglich, eintragen.

Über die quantitativen Verhältnisse werden wir uns in den dieser Arbeit beigegebenen Protokollen aussprechen.

Jedoch bedarf es einer Säurezufuhr interessanterweise überhaupt nicht, vielmehr tritt im Lauf der Digestion im Gefrierschrank bald am ersten Tag, bald erst am dritten für jede Probe ein Moment ein, in welchem ein geringer Chlorcalciumzusatz die Gerinnung mit derselben Sicherheit, allerdings nicht immer mit der gleichen Schnelligkeit auslöst wie der Säurezusatz.

Die Labhemmung durch genuine Frauenmilch und ihr Fehlen bei der vorbehandelten Frauenmilch.

Gelang es uns also, die Frauenmilch in einen Zustand überzuführen, in welchem sie nicht nur säurefällbar, sondern auch in

typischer Weise labungsfähig wird, so eröffnete sich auch die Aussicht, gleichzeitig einen Einblick in die von Szydlowski studierte labhemmende Fähigkeit der Frauenmilch zu gewinnen, und vielleicht von da zurückschreitend, ein Verständnis der Kältewirkung anzubahnen.

Vielleicht ist es nicht überflüssig, daran zu erinnern, daß ein Zusatz von Frauenmilch auf die Gerinnung eines bestimmten Quantums Kuhmilch eine Wirkung ausübt, welche je nach den Mengenverhältnissen von einer Verzögerung des Gerinnungsmomentes bis zur dauernden Verhinderung variiert. Szydlowski selbst hatte angegeben, daß durch das Kochen der Frauenmilch diese Behinderung großenteils oder völlig aufgehoben würde, ein Umstand, der bei dem damaligen Stand der Kenntnisse es völlig ausschloß, in dem Casein der Frauenmilch selbst den hemmenden Faktor zu suchen, da dieses ja durch das Kochen nicht verändert werde. Inzwischen haben Laquen und Sackur (14) gezeigt, daß das Casein durch eine höhergehende Erhitzung eine Spaltung erfahre, und man mußte wenigstens mit der Möglichkeit rechnen, daß auch bei bloßer Siedetemperatur diese Abspaltung sich in irgend einer Weise etwa durch intramolekuläre Umlagerungen vorbereitete. Indessen scheint das Szydlowskische Phänomen doch nicht die Konstanz zu besitzen, welche man verlangen müßte, um aus demselben Rückschlüsse auf die Natur der Labhemmung zu ziehen. In früheren in dem Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M., dank der Liebenswürdigkeit des Herrn Geheimrat Prof. Ehrlich, dem einen von uns ermöglichten Versuchen zur Feststellung der quantitativen Seite der Frauenmilchhemmung bei der Kuhmilchlabung hatte sich übrigens im Widerspruch mit der zuletzt berührten Möglichkeit herausgestellt, daß nicht einmal die Siedehitze erforderlich ist, um die besprochene Hemmungswirkung zum Verschwinden zu bringen, daß vielmehr eine Erwärmung der Ammenmilch auf ca. 70° dasselbe leistet und zwar, was ja bei dem bekannten Einfluß des Kochens auf jede Milch, auch solche vom Rind, nicht weiter wundernehmen kann, hemmte eine nur auf 70° erwärmte Milch sogar noch stärker als solche, die auf 100° gebracht worden war. Herr Professor Herzog, dem der eine von uns auf seinen Wunsch diese Erfahrungen mitteilte, hatte vor Jahren die Liebenswürdigkeit, ihn darauf aufmerksam zu machen, daß es ihm nicht glückte, die Phänomene

in der von Szydlowski beschriebenen Form zu reproduzieren; da jedoch weder er noch wir damals Grund hatten, der Frage näher zu treten, so unterblieb die Aufklärung dieser Widersprüche, welche übrigens vielleicht in den mineralischen Verhältnissen der verschiedenen Städte und ihrer Trinkwässer liegen könnte. Jedenfalls haben unsere recht zahlreichen, neuerdings in Berlin angestellten Versuche durchaus keinen erheblichen Unterschied zwischen erhitzter und normaler Ammenmilch erkennen lassen, während die Hemmung der Labgerinnung in allen Fällen deutlich war und blieb.

Ganz anders aber lagen die Verhältnisse, wenn man eine dem Gefrierprozeß unterworfene Milchprobe mit einer Vergleichsprobe, die nur auf Eis gehalten worden war, verglich. Die aufgetaute Milch nämlich hatte die Fähigkeit der Labhemmung vollständig eingebüßt, wenigstens wenn man die von uns als Kontrolle betrachteten Proben als richtig anerkennen will. Diese wurden nämlich so hergestellt, daß wir unter ungefährer Berücksichtigung des eigenen Caseingehalts der Frauenmilch dem Zusatz der Frauenmilch durch Hinzufügung von gleichen Volumina einer mittels physiologischer Kochsalzlösung aufs Doppelte verdünnten Kuhmilch zur Kontrollprobe zu entsprechen suchten. Die Übereinstimmung der Gerinnungszeiten war eine den Umständen nach voll befriedigende. Die Methodik, welche gegenüber früheren Angaben des einen von uns nichts Neues bringt, ist im Anhang nachzusehen.

Leider hat sich die Menge des aus den verschiedenen Proben mit Säure gewonnenen Caseins nicht als hinreichend zu einer chemischen Analyse erwiesen; es lag dies hauptsächlich daran, daß uns zur Zeit unserer Versuche eine zur Abrahmung der Frauenmilch geeignete große Zentrifuge nicht zur Verfügung stand; wir hoffen demnächst imstande zu sein, mit einer solchen zu arbeiten und dann zu analysierbaren Mengen zu gelangen.

Die irreversibeln Veränderungen der Milch beim Gefrieren.

Wir haben in vorstehender Arbeit die Wirkungen einer oder mehrerer irreversibler Veränderungen kennen gelernt, welche die Frauenmilch im gefrorenen Zustand durchmacht. Es lagen unseren Versuchen selbst ursprünglich Andeutungen zugrunde,

nach denen bloße Abkühlung bereits derartige Änderungen hervorruft; einen direkten Beweis für diese Voraussetzung liefern die Versuche Meyers. Jedoch ist es in den letztgenannten Fällen zweifelhaft, ob die Vorgänge nicht reversibel sind; für denjenigen, welchen wir im Auge haben, ist dies wenigstens zum Teil bestimmt zutreffend.

Fragen wir nun, was von der Einwirkung der Kälte auf Lösungen, die mit der Milch vergleichbar sind, im allgemeinen und auf Milch im speziellen bereits bekannt ist, so haben wir uns in ersterer Hinsicht zu erinnern, daß das Gefrieren auf viele Kolloide in der Art wirkt, daß sie in den unlöslichen oder Gelzustand übergehen. Man betrachtet seit langem eine Vergrößerung der kleinsten Bestandteile des Kolloids als Ursache für diesen Zustandswechsel, eine Annahme, welche durch das sogenannte Tyndallphänomen sowie namentlich durch die Ultramikroskopie von (15) Zsigmondy (16) bewiesen worden ist. Allerdings ist eine solche Gelbildung bisher niemals an „organischen" Kolloiden, an solchen, die aus dem tierischen oder pflanzlichen Organismus stammen, nachgewiesen worden. Wir erinnern an das prägnanteste Beispiel für die totale Reversibilität der durch das Gefrieren an solchen Körperkolloiden hervorgerufenen Veränderungen: an die Möglichkeit, ganze Tiere, Frösche unter andern, in Eisklumpen zu verwandeln und ohne Störung der Lebensvorgänge wieder aufzutauen.

Indessen kann es nicht wundernehmen, wenn gerade die Milch in diesem Punkte eine Sonderstellung einnimmt. Die kolloidale Verteilung nämlich, in welcher sich ein bestimmter Bestandteil der Milch, und zwar gerade das Casein befindet, zeichnet sich durch ein besonders grobes Korn aus, derart, wie man es sonst bei anorganischen Kolloiden vorfindet; diese relative Grobkörnigkeit verrät sich äußerlich durch die weiße Färbung, welche auch einer ganz scharf abgerahmten Milch zukommt, solange man in ihr Casein nicht durch Alkali solubilisiert hat. Aus diesem Grunde ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß auch die weiteren Eigenschaften des gelösten Milchcaseins sich denjenigen eines gewöhnlichen Soles nähern; um so mehr, als ja auch der Siedehitze gegenüber das Casein sich anders verhält als andere der Verdauung nochnicht ausgesetzte Eiweißkörper, indem es ebensowenig wie die Sole der Schwermetalle dabei auskoaguliert wird.

Immerhin ist zu berücksichtigen, daß die Transparenz der Frauenmagermilch diejenige der abgerahmten Kuhmilch bei weitem übertrifft, zum Teil gewiß dank ihrem geringeren Kalkgehalt bei gleichzeitig höherer Alkaleszenz. Auf jeden Fall aber ist es erforderlich, einiges über das beststudierte Casein, dasjenige der Kuhmilch, unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen anzugeben.

Bekanntlich existiert ein verbreitetes Verfahren zur Konservierung von Milch während längerer Transporte, insbesondere aus den nordischen Ländern, welches darin besteht, daß sie als sogenannte Eismilch verfrachtet wird, das heißt in teilweise gefrorenem Zustand. Derartige Milch hält sich während der Transportzeit gut und zum Genuß geeignet, derart, daß der Geschmack, welcher in diesem Punkt besonders bei Kindern auf leichte Veränderungen bereits reagiert (17), sich unbeeinträchtigt erweist. Immerhin konnte festgestellt werden, daß während einer längeren Gefrierdauer gewisse Körner in der Milch auftreten, die nicht mit der Hauptmenge zusammen sich verflüssigen, sondern dauernd aus der Lösung ausscheiden (18). Über die Natur der genannten Milchflocken hat man sich durch Analysen zu unterrichten versucht und, wie das so häufig bei der Milch geschieht, in ihnen einen besonderen Milchbestandteil erkennen zu müssen gemeint, weil die Analysenzahlen für keinen der bekannten Bestandteile recht stimmen wollten. Ohne auf diese Frage im einzelnen eingehen zu wollen, wozu wir uns mangels eigener darauf gerichteter Versuche auch nicht für berechtigt halten, sei es uns doch gestattet, auf die Möglichkeit hinzuweisen, daß in einem so komplizierten Gemenge, wie es die Milch vorstellt, die Ausscheidung eines Bestandteils in unlöslicher Form nicht leicht ohne Beteiligung der andern abgeht; in dieser Hinsicht sei nur an den Fettgehalt des Labkäses erinnert, bei dessen naiver Analyse man auch zu Zahlen gelangen würde, welche einen besonderen vom Casein verschiedenen, weil ja viel kohlenstoffreicheren Bestandteil annehmen lassen müßten. Etwas ganz ähnliches gilt auch für die beim Kochen sich bildende sogenannte Milchhaut; wir glauben daher nicht, daß die chemische Analyse der Milchflocken viel Sicheres ergeben wird.

Dagegen können wir über eigene Erfahrungen berichten, was die Veränderungen der Labfähigkeit einer solchen durch

längere Zeit gefrorenen Kuhmilch angeht. Die ungewöhnlich lang anhaltende Kälte dieses Winters hat es uns gestattet, eine größere Menge ein und derselben Kuhmilch durch einige Wochen in gefrorenem Zustand aufzubewahren; wir gedachten uns dieser Milch als einer Standardmilch für Labversuche zu bedienen, ähnlich, wie wir dies mit einer jedesmal frisch bereiteten Lösung unserer Trockenmilch zu tun pflegen; es stellte sich nun nach einiger Zeit deutlich heraus, daß an dieser für unveränderlich gehaltenen Milch geprüft, unser Standardlab scheinbar immer besser wurde, während eine Kontrolle mit einer Trockenmilchlösung uns belehrte, daß eine entgegengesetzte Annahme der Wahrheit näher kam. Es gehen also auch an der Kuhmilch beim Stehen in gefrorenem Zustand Veränderungen vor sich, welche ihre Gerinnbarkeit erhöhen in ähnlicher Weise, wiewohl in geringerer Ausdehnung, wie wir dies an der Frauenmilch festgestellt haben.

Diese Veränderungen beruhen nicht etwa auf der Zerstörung eines in der Milch enthaltenen Antilabs. Denn erstens läßt sich solches im Serum beliebig lange gefroren aufbewahren und zweitens wird eine solche Annahme, wenigstens was die Frauenmilch anbetrifft, widerlegt durch die völlige Einflußlosigkeit des Kochens auf die eigene Ungerinnbarkeit derselben, sowie auf deren hemmende Wirkung gegenüber der Koagulation der Kuhmilch.

Dabei ist es ohne weiters auffallend, daß auch aus der Frauenmilch sich infolge des Gefrierens Milchflocken ausscheiden, und zwar in keineswegs geringer Menge.

Es ist nun überaus einladend, einen Zusammenhang zu konstruieren zwischen der Flockenbildung und der vergrößerten Neigung zur Labgerinnung sowie zur Ausscheidung im allgemeinen, derart, daß man erstere als den ersten Schritt zur Ausfällung ansieht. Deutlicher ausgedrückt, nehmen wir also an, daß eine längere Digestion von Milch in gefrorenem Zustand auf das Casein derselben einen derartigen Einfluß ausübt, daß es ähnlich wie die anorganischen Sole sein Korn vergrößert. Solange die Kornvergrößerung sich in mäßigen Grenzen hält, läßt sich aus dem Milcheis noch eine milchartige Lösung herstellen, welche sich von der unbehandelten Milch aber insofern unterscheidet, als Vorgänge, welche das Zusammentreten der einzelnen Caseinpartikel zu sichtbaren Aggregaten verlangen, leichter und in kürzerer Zeit ablaufen als zuvor. Im einzelnen Fall mag es schwierig

sein zu entscheiden, ob man es nur mit der beschriebenen Begünstigung zu tun hat, oder ob noch ein zweiter Faktor mitspielt, welcher auf einer noch weitergehenden Wirkung der gleichen Ursache beruht, nämlich dem vollkommenen Wegfall einiger Caseinteile aus der Lösung, veranlaßt durch deren völliges Unlöslichwerden. Denn es ist seit den Untersuchungen des einen von uns anerkannt, daß die Gerinnungszeit ceteris paribus direkt von dem Caseingehalt abhängt. Immerhin legen wir auf letztere Möglichkeit ein geringeres Gewicht, ausgehend von der Erfahrung, daß man geneigt ist, die Erheblichkeit einer eiweißartigen Fällung, mag dieselbe noch so massenhaft scheinen, eher zu über- als zu unterschätzen. Wir weisen nur auf das Beispiel der Präzipitinreaktionen hin.

Die Erklärung des veränderten Verhaltens der wieder aufgetauten Milch nebst Rückschlüssen auf die Natur der Labhemmung durch genuine Frauenmilch.

Wenn wir uns den ausgeführten Gedankengang aneignen, und in der Tat sehen wir zurzeit keine andere Möglichkeit, in ungekünstelter Weise die herangezogenen Phänomene zu deuten, so ergibt sich die Folgerung, daß die (makroskopische) Ungerinnbarkeit der Frauenmilch nicht auf eine einzige Ursache zurückgeführt werden darf; vielmehr muß man zuvörderst eine Reihe von Momenten unterscheiden, die der gewöhnlichen und der wieder aufgetauten Milch gemeinsam sind. Dies ist erstens die große Verdünnung, in welcher sich ihr Casein befindet (ein Umstand, der überhaupt nur ein relativ lockeres oder feinkörniges Gerinnsel sich ausbilden läßt), und ferner ihre Alkaleszenz resp. ihr Mangel an Kalk, zwei Faktoren, von denen mindestens einer beseitigt werden muß, wenn überhaupt eine Gerinnung auftreten soll. Immerhin darf man sich die Alkaleszenz auch nicht allzu erheblich vorstellen, denn dieselbe hindert die Labwirkung nicht, sondern bloß deren sichtbaren Ausdruck, die Gerinnung, welche jedoch durch nachträglichen Säurezusatz prompt ausgelöst wird.

Allein ein anderes, und wie es uns scheint, wichtigeres Moment kann durch die von uns angegebene Vorbehandlung der Milch mittels tiefer Temperaturen ausgeschaltet werden, und dieses Moment sehen wir in einem für die Labung ungeeigneten Zustand

des Caseins selbst, und zwar vermutlich in seiner zu feinen Verteilung. Erst durch die Beseitigung dieses Umstandes gelingt es, bei der Mehrzahl der Frauenmilchproben überhaupt eine einigermaßen typische Gerinnung zu erzielen.

Da gleichzeitig mit dem Auftreten dieser Labfähigkeit die labhemmende Eigenschaft der Ammenmilch verschwindet, so ergibt sich, daß mit größter Wahrscheinlichkeit für beide Veränderungen ein und derselbe Prozeß verantwortlich zu machen ist, nämlich, wie wir annehmen, die Vergröberung des Caseinkorns.

In welcher Weise übt nun der an sich für die Gerinnung ungeeignete Zustand des in gewöhnlicher Frauenmilch enthaltenen Caseins auf das Kuhcasein und seine Gerinnung einen Einfluß aus?

Hier war zunächst die Annahme zu prüfen, ob vielleicht die Affinität des Kälberlabes zum Frauencasein größer sei als zum Kuhcasein; Versuche mit vorheriger Digestion des Labes mit der Frauenmilch ergaben nicht, wie nach dieser Annahme zu erwarten war, eine größere Verzögerung des Eintrittes der Gerinnung; ebensowenig kürzte sie anderseits die an dem fertigen Gemenge beobachtete Gerinnungszeit ab. Damit erledigt sich die andere Annahme, als ob diese sich zusammensetze aus der Zeit, welche der Übergang des Frauencaseins in Paracasein erfordert, und der Gerinnungsdauer für die Kuhmilch.

Aber auch um eine bloße geringere Festigkeit des Gerinnsels kann es sich bei dem studierten Hemmungsphänomen nicht wohl handeln, wie wir durch eigens angestellte Versuche darzutun imstande waren.

Zur Lösung derartiger Alternativen besitzen wir in dem Morgenrothschen Verfahren ein vortreffliches Kriterium: wenn man zwei Parallelversuche nach dieser Methode anstellt und nachsieht, einen wie großen Zusatz einmal von genuiner Frauenmilch eine bestimmte Menge Kuhmilch verträgt, um mit einer bestimmten Menge Labextrakt nach einer 24stündigen Kältedigestion eben noch beim Erwärmen auf Brutschrankwärme eine Gerinnung zu zeigen, so findet man in der gleichzeitig aufgestellten Reihe, daß eine vorherige Behandlung der gleichen Milch mit dem Gefrierverfahren die genannte Grenze erheblich in die Höhe drängt, daß also eine weit größere Menge der wieder aufgetauten Milch nötig ist, um die Gerinnung des gewählten Quantums Kuhmilch hintanzuhalten, ja daß solche Milch überhaupt in dieser

Hinsicht nur so wirkt, wie ihrer Menge, ihrem Caseingehalt usw. entspricht. In anderer Hinsicht, nämlich betreffend die Festigkeit des Gerinnsels, ist allerdings eine Beeinträchtigung nicht zu verkennen, die indessen auf die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Frauenmolke ungezwungen bezogen werden kann.

Daß aber die Verhältnisse der verschiedenen Molken nicht etwa alles erklären können, ergibt sich aus einer weiteren Reihe von Versuchen.

Wie unsere Protokolle ohne weiteres erkennen lassen, hindert ein mäßiger Zusatz von Frauenmilch, so wie sie aus der Brust kommt, auf die Dauer durchaus nicht den Eintritt der Labgerinnung. Die Bedingungen zu der Verkäsung sind also verwirklicht in einem Gemenge, welches besteht aus den beiderseitigen Caseinen und den beiderseitigen Molken; da es nun ohne Hinzubringen differenter Stoffe zurzeit noch nicht möglich ist, eine Frauenmolke herzustellen, so lassen diese Bedingungen sich nur in der Weise variieren, daß man eine (schwach labhaltige) Kuhmolke mit Frauenmilch vereinigt und der Labwirkung aussetzt; bei dieser Anordnung ist eine Verkäsung nicht zu konstatieren, was doch der Fall sein müßte, wenn (um einen kurzen Ausdruck zu gebrauchen) die salinischen Bedingungen für den positiven Ausfall der Gerinnungsprobe in der Mischmilch verantwortlich gemacht werden dürften.

Per exclusionem ergibt sich mithin, daß die genuine Frauenmilch ein Casein enthält, das sich zur (typischen) Labung überhaupt nicht eignet. Diese Beobachtung läßt uns auch verstehen, warum die sich abscheidende Molke aus unserer Mischmilch allemal trüb ist, das genuine Frauencasein geht in den Käse eben nicht ein.

Dennoch ist dasselbe imstande, mit Labferment zu reagieren, dasselbe also auch in reversibler Weise zu binden, daher von der Reaktion mit dem Kuhcasein abzulenken und aus diesem Grund die Gerinnungszeit zu verlängern. Diese Hypothese wird der Summe der von uns beobachteten Phänomene am besten gerecht, und darum stellen wir uns auf diesen Boden, ohne zu verkennen, daß dieselbe als erwiesen noch nicht zu gelten hat.

Durch den Gefrierprozeß, so nehmen wir weiter an, gewinnt das Frauencasein vermutlich infolge eines Anwachsens seiner Elementarpartikel eine leichtere Fällbarkeit (vgl. die Möglichkeit

einer Säurefällung); sie vermag mit Lab unter passenden salinischen Bedingungen zu reagieren.

Die Vergröberung des Korns ist sogar bei länger anhaltender Frostwirkung direkt sichtbar.

Gleichzeitig büßt sie ihre labhemmende Fähigkeit ein, unserer Ansicht nach alles die Wirkung des gleichen Prozesses.

Die Vorgänge, welche sich innerhalb der gefrorenen Milch abspielen.

Ein Punkt jedoch bedarf noch einer weiteren Erörterung, es ist dies die Notwendigkeit einer länger anhaltenden Frostwirkung.

Wie soll man diese deuten? Im allgemeinen ist doch die Wirkung des veränderten Aggregatzustandes eine momentane; nach dem Gefrieren sind nur noch feste Körper vorhanden und es gilt das Prinzip corpora non agunt nisi fluida; selbst feste Salzsäure ist nicht imstande, mit Natriummetall zu reagieren. Nun weiß man ja allerdings, daß bei eiweißartigen Substanzen ein insofern abweichendes Verhalten vorkommt, als eine Ausfällung, welche anfangs vollkommen löslich ist, bei längerem Stehen ihre Löslichkeit mehr oder weniger einbüßt, ein Umstand, der bei der Trennung von Eiweißstoffen und Enzymen eine vielfältige Anwendung findet, zumal wenn als Fällungsmittel Alkohol verwendet wird.

Immerhin ist hier wenigstens das Fällungsmittel selbst eine Flüssigkeit, in welcher der Niederschlag als etwas löslich gedacht werden muß, so daß die entscheidenden Veränderungen doch mutmaßlich an den jeweils in Lösung befindlichen Anteilen vor sich gehen dürften.

Wie aber in dauernd fester, kristallinischer Form ausgeschiedenes Wasser während der Digestion auf die Löslichkeitsverhältnisse des gleichfalls aus der Lösung ausgeschiedenen Caseins wirken soll, ja wie seine Anwesenheit auch nur das aus irgend welchen unbekannten anderweiten Gründen erfolgende Zusammentreten von Caseinpartikeln zu größeren Aggregaten in der Weise, wie wir sie annahmen, gestatten soll, das ist auf den ersten Blick schlechtweg unverständlich.

Es scheint uns geboten, zur Erklärung dieser Verhältnisse, deren Bedeutung weit über den zur Diskussion stehenden Fall

hinausgreift, ein wenig weit auszuholen. Durch die Untersuchungen neuerer Forscher, namentlich von Bemmelen (19), Hofmeister (20), Spiro (21) und Galeotti nimmt man an, daß in einer „Lösung" kolloidaler Stoffe ein Teil des Wassers in einem näheren Verhältnis zu dem Kolloid steht als der Rest; zur Entziehung dieses Wassers ist eine erhebliche Arbeit erforderlich. Daher fällt auch bei Aussalzungen und Alkoholfällung u. dgl. nicht etwa reines Kolloid als Bodenkörper aus, sondern wasserhaltiges; wenn man will, mag man von einer Lösung des Wassers im Kolloid sprechen, welche sich von der überstehenden nur sehr dünnen wässerigen Lösung des Kolloids abscheidet, freilich, wenn man die Molekulargewichte berücksichtigt, müßte man auch den Bodenkörper noch als wässerige Lösung ansehen. Ohne nun auf derartige Namengebungen mehr Gewicht legen zu wollen, als ihnen zukommt, wollen wir nur darauf hinweisen, daß auch im Falle des Gefrierens sich das Casein nebst den andern Eiweißkörpern nicht als fester reiner Körper ausscheiden wird, sondern als Lösung, wobei im einzelnen der Vorgang so zu denken sein dürfte, daß durch das Ausgefrieren reinen Eises eine immer konzentriertere Sole entsteht, deren Salzgehalt zu irgend einem Zeitpunkt so hoch wird, daß die Albuminoide ausgesalzen werden. Endlich erstarrt dann auch die Sole. Es ergibt sich hieraus zunächst, daß die einzelnen Caseinpartikel tatsächlich in räumlicher Nachbarschaft mit ihresgleichen liegen, so daß einem Zusammentreten mehrerer nichts im Wege steht, wenn anders Ursachen vorliegen, die ein solches Ereignis sonst begünstigen. Worin diese Umstände zu suchen sein mögen, darüber sind wir auf Vermutungen angewiesen; Gewißheit oder Wahrscheinlichkeit wäre erst durch eine genaue mikroskopische und ultramikroskopische Kenntnis der Struktur gefrorener Salzlösungen zu erwarten. Eine Temperatur von 2—4°, wie sie im „Frigo" vor der Auffüllung der Kältemischung sicher erreicht und überschritten wird, läßt Salzlösungen mit einem Gehalt von wenigen Prozenten Kochsalz bereits flüssig; wir nehmen daher an, daß eingeschlossen in eine zusammenhängende Eishülle Tropfen oder noch kleinere Aggregate von großem Salzgehalt existieren, in deren Nähe die Caseinpartikelchen aus den oben angegebenen Gründen sich befinden, falls dieselben nicht gar in ihnen „gelöst" sind (eine Annahme, die uns aus anderen Gründen nicht gerechtfertigt scheinen würde).

Durch die aus diesen Ungleichartigkeiten und Temperaturschwankungen notwendig herbeigeführten Vorgänge scheint uns eine Möglichkeit gegeben, den Fortschritt im Zustandswechsel des Caseins zu verstehen, zumal ja auch hier das Corpus fluidum nicht vermißt wird.

Hiernach sehen wir ohne weiteres ein, warum unsere Versuche, die Länge der Frostzeit durch eine möglichst ausgiebige Abkühlung zu ersetzen, nicht von einem besseren Erfolg begleitet waren; im Gegenteil würde sich aus dieser Betrachtung ergeben, daß derartige Vorgänge bei der Temperatur der flüssigen Luft selbst bei gleicher Einwirkungsdauer weniger weit gehen würden als bei unserer Versuchstemperatur, ja daß möglicherweise auch innerhalb der Versuche eine möglichst nahe am Nullpunkt liegende Temperatur sich wirksamer erwiese als eine recht tiefe; es ist nicht ausgeschlossen, daß die von uns konstatierten Unterschiede, zumal dieselben sich erst mit der Zeit einstellten, weniger an einer wirklichen Verschiedenheit der Milchproben lagen als an der zunehmenden Kälte des Winters und vielleicht auch an einem besseren Funktionieren des „Frigo".

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

1. In der vorstehenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß eine Aufbewahrung von tierischen Flüssigkeiten in gefrorenem Zustand, wie sie von Ehrlich mit großem Erfolg eingeführt wurde, nicht in allen Fällen mit Sicherheit die Wiederherstellung einer Lösung von den früheren Eigenschaften durch das Auftauen zuläßt; es wird bei derartigen Untersuchungen in Zukunft für jeden Einzelfall nachzusehen sein, ob solche Änderungen eintreten oder ausbleiben.

2. Die Ungerinnbarkeit der Frauenmilch mit den üblichen Gerinnungsmitteln liegt hauptsächlich (im Falle der Säurefällung) oder großenteils (im Fall der Verkäsung) an ihrem für derartige Vorgänge ungeeigneten physikalischen Zustand.

3. In der Aufbewahrung der Frauenmilch in gefrorenem Zustand während der Dauer von mindestens dreimal 24 Stunden besitzen wir ein Mittel derselben, die zum Zustandekommen dieser Reaktionen erforderlichen Eigenschaften zu erteilen. In vielen Fällen genügt indessen bereits eine weit kürzere Zeit, zumal

zwecks Ermöglichung der Reaktion bei Gegenwart von Säure, mit oder ohne Lab.

4. Durch dieses Verfahren vermochten wir zum erstenmal eine Labgerinnung der Frauenmilch ohne Säurezusatz bloß durch Steigerung ihres an sich unzureichenden Gehaltes an Chlorcalcium herbeizuführen.

5. Derartig fällbar gemachte Frauenmilch geht ihres labhemmenden Vermögens gegenüber gewöhnlicher Kuhmilch verlustig, eine Veränderung, die weder in diesem Umfang noch auch mit dieser Sicherheit in anderer Weise erreicht werden kann. Insbesondere erwies sich das Kochen sowohl wie das Erhitzen auf 70° bei unseren Versuchen im Gegensatz zu älteren fremden und eigenen Erfahrungen als gänzlich resp. fast ganz einflußlos.

6. Die beschriebene Hemmungswirkung ist nicht gegen den Ausfällungsprozeß, sondern gegen die Enzymwirkung selbst gerichtet.

7. Auch die Kuhmilch erlangt bei längerer Aufbewahrung in gefrorenem Zustand eine leichtere Gerinnbarkeit als vordem.

8. Ähnlich, wie dies von letzterer Milchart seit langem bekannt ist, nur in noch stärkerem Maße, läßt die Frauenmilch während des Gefrierens Milchflocken sich bilden, deren Auflösung durch das Auftauen nicht gelingt.

9. Als einheitliche Erklärung all dieser Vorgänge nehmen wir an, daß das Casein der Frauenmilch sowohl für die schlechte Gerinnbarkeit dieser selbst, als der mit ihr gemischten Kuhmilch verantwortlich zu machen ist.

10. Es konnte erwiesen werden, daß die Differenz der Molken hierbei unbeteiligt ist.

11. Durch das Gefrorenhalten erfährt (nach unserer Annahme) das Korn des Caseins eine Vergröberung, welche die Ausfällung mit den studierten Reagenzien, aber auch die spontane Ausscheidung begünstigt.

12. Die Dauer der Abkühlung läßt sich nicht durch größere Intensität derselben ersetzen. Selbst die Temperatur der flüssigen Luft bleibt, während kürzerer Zeit angewendet, ohne Effekt.

13. Es muß daher in der Kälte sich ein fortlaufender Prozeß abspielen, der die konstatierten Resultate allmählich, jedoch in irreversibler Weise, nach sich zieht.

14. Die Analyse der bei dem Gefrieren salzhaltiger Eiweißlösungen sich abspielenden Vorgänge führt zu dem Schluß, daß die Partikel der Eiweißstoffe sowohl zueinander als zu den Teilchen einer konzentrierten Mutterlauge oder Sole eine benachbarte Stellung einnehmen; diese räumliche Lagebeziehung gibt die Möglichkeit sowohl wie die mutmaßliche Ursache ab für die angenommene Größenzunahme der Elementarpartikel. Dabei sind die einzelnen Teile der Sole als flüssige kleinste Einschlüsse innerhalb der scheinbar einheitlichen Eismasse anzusehen.

Protokolle.

Die Methodik der Säurefällung.

Die Größe der Milchproben war je nach ihrer Provenienz sehr verschieden zwischen 20 und 200 ccm; sämtliche Herren Kollegen, die uns unterstützten, ließen uns die Proben in sterilen Gefäßen, Reagensgläsern mit Wattepfropfen oder Flaschen mit abnehmbarem Patentverschluß zugehen.

Nach Anstellung der Vorproben gossen wir die restierenden Quanten in starkwandige Glasflaschen, die mit einem gut schließenden Kork versehen in den Trog des Gefrierschrankes Frigo gesetzt wurden. Obwohl sie dort von der unmittelbaren Berührung mit der Kältemischnng ausgeschlossen sind, fanden wir regelmäßig, daß binnen zweier Stunden kleinere Portionen vollkommen und größere wenigstens teilweise in Eis verwandelt waren.

Sollte eine Untersuchung einer solchen gefrorenen Milch vorgenommen werden, so wurde sie aus dem Frigo in eine größere Menge Wassers von ca. 40° übertragen und darin unter Umschütteln allmählich zum Auftauen gebracht. Blieb ein Rest, der das Aufheben verlohnte, so wurde dieser, wie vorher die Hauptmenge, gefroren.

Da wir überhaupt nur Milch von dem im Text geschilderten typischen Verhalten gegen Säure zu den zahlreichen Labversuchen verwenden konnten, so sei auf diese hingewiesen (s. u.). Um aber zu zeigen, wie wenig Vorsicht zur Säurefällung der wiederaufgetauten Frauenmilch erforderlich ist, lassen wir das Protokoll vom 23. Januar folgen.

Versuch.

Von 8 Portionen gefroren aufbewahrter Frauenmilch werden je 2 ccm mit 2 ccm destillierten Wassers verdünnt, dazu 1 Tropfen verdünnter Essigsäure (ca. 5 prozentig) gesetzt. Es tritt in 7 Proben deutliche Ausflockung ein und nur in der zuletzt (am 21. Januar) in den Frigo gesetzten nicht.

Die Verdünnung mit Wasser kann unterbleiben oder auch stärker gewählt werden, wie im folgenden Versuch, ohne daß das Resultat ein anderes wird.

Versuch vom 22. Januar.

Von der während 24 Stunden gefroren gewesenen Milch wird 1 ccm mit 4 ccm Wasser verdünnt und mit einem Tropfen (10 prozentiger) Essigsäure versetzt. Es entsteht eine schöne Fällung.

Daß das Verfahren sich auch für größere Quanten eignet, zeigt der Versuch vom 25. Januar (dem wir einen im Juni ausgeführten anschließen können). 450 ccm gefroren aufbewahrter Mischmilch von verschiedenen Ammen werden mit dem dreifachen Volumen destillierten Wassers verdünnt und mit Essigsäure (10%) im Verhältnis 1 : 400 schwach angesäuert.

Es entsteht eine allmählich aufsteigende Ausscheidung. Unnötig ist es, zu bemerken, daß von solchen Versuchen im großen das vorteilhafteste Mengenverhältnis an Vorproben festgestellt wurde.

Das Casein setzt sich bei den kleinen Vorproben meist viel schneller ab (oder steigt, wie meistens, schneller auf) als in den großen Proben, was nur in den verschiedenen Höhen der Flüssigkeitssäulen seinen Grund haben kann; daher ist es am besten, möglichst breite Schalen zu benützen.

Der Niederschlag wurde abfiltriert, gründlich mit ganz verdünnter Essigsäure gewaschen, in schwachem Ammoniak aufgelöst, wieder gefällt und nach mehrmaliger Wiederholung dieser Prozedur mit Alkohol und Äther behandelt.

Zur Methodik der Labgerinnung.

Es ist nicht unwesentlich, voranzuschicken, daß wir als „Labgerinnung" der Frauenmilch ein ganz analoges Verhalten bezeichnen, wie es oben für die Säuregerinnung beschrieben ist.

Wir verlangen daher nicht etwa die Bildung eines zusammenhängenden Gerinnsels, welches allerdings beim ruhigen Stehen der Probe im Wärmebad sich an die Flockenbildung meistens anschließt, sondern nur letztere selbst. Zu beachten ist, daß man nicht etwa durch das Abrahmen der Frauenmilch beim Stehen sich täuschen lassen darf, eine Forderung, die selbst von Ungeübten durch Anstellung der nötigen Kontrollen leicht zu erfüllen ist.

Die Ausführung der einfachen Labversuche gestaltete sich stets so, daß mehrere Reagensgläser mit je 2 ccm der zu untersuchenden Milch im Wasserbad von 40° vorgewärmt und darauf mit einem Tropfen Labextrakt versetzt wurde. Letzterer war ein wässerig-glyceriniger Auszug aus dem „Lab"-Pulver der Institutssammlung.

Nachdem die Proben einige Minuten digeriert waren, wurde die eine von ihnen mit einem Tropfen einer $^{1}/_{10}$ Normal-Salzsäure versetzt, die zweite mit ebensoviel einer 20 prozentigen Chlorcalciumlösung und die dritte ohne Zusatz belassen.

Von den labfreien Proben wurde zu einer die angegebene Menge Säure, zu einer anderen Chlorcalcium hinzugefügt und in einigen Fällen noch eine dritte Probe mit allen beiden Reagenzien zusammengebracht.

Da wir stets das Verhalten der (wenige Grade) oberhalb des Nullpunktes aufbewahrten Portion mit demjenigen der gefrorenen Milch aus der gleichen Flasche verglichen, so bestand jeder einfache Labversuch aus mindestens 10—12 Proben.

Indessen begnügten wir uns meistens damit, die Ungerinnbarkeit der Proben bei der Einlieferung oder nach ungenügender Gefrierdauer zu konstatieren.

Versuch vom 3. Januar.

Frauenmilch, welche während 24 Stunden im gefrorenen Zustand aufbewahrt worden war, wird aufgetaut.

Mehrere Proben zu je 2 ccm werden abgemessen und im Wasserbad auf 40° angewärmt, und nachdem sie dessen Temperatur angenommen haben, werden einige mit je einem Tropfen einer starken, wässerig-glycerinigen Lablösung versetzt.

Solche Proben ohne Zusatz weiter digeriert, lassen nach 15 Minuten keine Veränderung erkennen.

Nach 5 Minuten, von dem Moment des Labzusatzes an, wird je eine labhaltige Probe versetzt mit einer 20prozentigen Chlorcalciumlösung und zwar

a) mit 0,1 ccm
b) mit 0,05 ccm,
c) mit 0,005 ccm.

Probe a gerinnt sofort flockig, Probe b nach ca. einer, Probe c nach einigen Minuten.

Labfreie Kontrollen von dem gleichen Chlorcalciumgehalt lassen keine Veränderung bei der Wärmedigestion erkennen.

Die Gerinnung würde sich an einer labhaltigen Probe auch durch einen Tropfen $^{1}/_{10}$ Normal-Salzsäure ebenso hervorrufen lassen, sogar mit noch größerer Sicherheit.

Es sei nur noch einer der zahlreichen, übereinstimmenden Versuche angeführt.

Versuch vom 15. Januar.

Von einer Probe, die (nach eintägigem Frieren) am 14. sich ungerinnbar gezeigt hatte und in dem „Frigo“ auf 24 l zurückgekommen war, wurden je 2 ccm auf 40° erwärmt, mit einem Tropfen Lab versetzt

a) ohne Zusatz: unverändert,
b) + 1 Tropfen 20proz. $CaCl_2$-Lösung: flockige Gerinnung,
c) + 1 Tropfen $^{1}/_{10}$ HCl: flockige Gerinnung.

Kontrollen ohne Lab negativ.

Die Labhemmung.

Die Prüfung der Labhemmung geschah nach dem Zeitmessungsverfahren. In Ermanglung von Metronom und Rennuhr wurde die Zeit nach einer gewöhnlichen Sekundenuhr gemessen, die der eine von uns beobachtete, während der andere dem eigentlichen Versuch seine Aufmerksamkeit widmete. Auf ein durch eine Benachrichtigung voraus angekündigtes Kommando des einen stürzte der andere den abgemessenen Inhalt eines im Ostwaldschen Wasserbade vorgewärmten Reagensglases in das bereit gehaltene, ebenfalls vorgewärmte Röhrchen mit der gewählten Labmenge; unter pendelartigen Bewegungen des Röhrchens im Bade wurde auf das Erscheinen der flockigen Umwandlung des

Glasinhalts geachtet; sowie diese begann, wurde der andere durch Zuruf aufgefordert, die Zeit zu notieren.

Diese Versuchsanordnung erwies sich als eben genügend für unsere Zwecke.

Was die quantitative Seite angeht, so war die Labmenge meist 0,2 ccm, die Menge frischer (resp. frisch aufgetauter) abgerahmter Kuhmilch 5 ccm, die Menge Frauenmilch 2 ccm; die Gerinnungszeiten zwischen 1 und 5 Minuten.

Das Weitere ergibt sich aus den nachstehenden Protokollen.

Wir geben zunächst einen Versuch wieder, der zeigt, daß das Kochen der Frauenmilch auf die durch sie ausgeübte Labhemmung keinen, resp. keinen abschwächenden Einfluß ausübt, während ein solcher dem Erwärmen auf 70° höchstens in geringem Maße zukommt, im Gegensatz zu dem deutlich herabsetzenden Einfluß des Gefrierverfahrens.

Versuch vom 16. Januar.

5 ccm frischer Magermilch + 4 Tropfen Lab, Zusatz je 2 ccm von:

	Nichts	Genuiner Frauenmilch	Gekocht. F.	F. 70°	Gefror. F.	Magermilch + 0,9% Kochsalzlösung
Gerinnungszeit	1′ 14″	3′ 45″	4′ 3″	3′ 29″	2′ 35″	1′ 56″

Die Werte sind das Mittel aus mehreren gut übereinstimmenden Beobachtungen.

Noch stärker sind die Unterschiede in den folgenden Versuchen, bei welchen gefrorene Milch nicht benutzt wurde, zumal im zweiten.

Versuch vom 17. Januar.

0,2 Lab, sonst wie oben, Bezeichnungen wie oben, nur abgekürzt.

Versuch vom 18. Januar.

Ebenso.

Datum		Nichts	Genuine Frauenmilch	Gekocht F.	F. 70°	Magermilch + 0,9 % Kochsalzlösung
17. Januar	Gerinnungszeit	56″	2′ 32″	2′ 37″	2′ 6″	1′ 17″
18. „		53″	2′ 42″	!3′ 22!	2′ 7″	1′ 11″

Sämtliche Werte sind Mittelzahlen aus zwei gut übereinstimmenden Einzelversuchen.

Zum Schluß nochmals ein Versuch, der die ziemliche Einflußlosigkeit der übrigen Prozeduren im Gegensatz zur deutlichen Wirksamkeit des Gefrierverfahrens zeigt.

Versuch vom 19. Januar.

Vorgehen und Bezeichnung wie im vorigen.

		Nichts	Genuine Frauenmilch	Gekocht F.	F. 70°	Gefror. F.	Magermilch + 0,9% Kochsalzlösung
19. Jan.	Gerinnungszeit	1′ 11″	3′ 23″	3′ 47″	3′ 15″	1′ 46″	1′ 32″

Versuch vom 23. Januar.

Morgenroth-Versuch.

Der Versuch zeigt, daß eine Hemmung der Labung — nicht etwa bloß der Ausfällung — durch die frische, jedoch nicht mehr durch die wieder aufgetaute Frauenmilch ausgeübt wird.

Magere Kuhmilch vom Tag zuvor, gefroren aufbewahrt, wird im Verhältnis 100 : 40 ccm gemischt:

1. mit frischer Frauenmilch;
2. mit gefroren aufbewahrter Frauenmilch.

Mit beiden Mischungen wird ein Reihenversuch in der Weise angesetzt, daß je 10 ccm der Mischung mit fallenden Mengen Lab (von 0,02 bis 0,00075 ccm) zusammengebracht werden. Nach einmaligem Umschütteln werden beide Reihen in den Eisschrank (ca. 6°) übertragen.

Nach 24 Stunden kommen beide auf fünf Minuten in ein Wasserbad von 40°. Es ergibt sich, daß von der ersten Reihe, derjenigen mit frischer Frauenmilch, die Probe mit 0,005 ccm Lab noch eben fest wird, während bei Anwesenheit wieder aufgetauter Frauenmilch in der zweiten Reihe nur 0,0015 ccm, also nur ein Drittel so viel erforderlich ist.

Ein Gehalt von 0,001 ccm im ersten Fall und 0,00075 ccm im zweiten läßt die Milch bei dieser Versuchsanordnung vollkommen flüssig. Die dazwischenliegenden Proben, im ersten Fall 5, im zweiten nur 1, sind unvollkommen oder teilweise geronnen.

Ein derartiges Verhalten wie in der ersten Reihe findet sich auch sonst bei Versuchen mit labhemmenden Mitteln, z. B. Pferdeserum. Tatsächlich ist in der zweiten Reihe gegenüber der zur Ermittlung der nötigen Labmenge vorausgeschickten Einstellung der benutzten Magermilch allein kein Unterschied vorhanden gewesen.

Versuch vom 25. Januar 1907.

Die zeitliche Labhemmung, welche Frauenmilch ausübt, läßt sich nicht ausschalten durch vorausgehende Digestion mit der gewählten Labmenge, auch nicht wenn man deren Schädigung durch Abkühlung ausschließt.

Je 0,2 ccm der Lablösung wird mit je 2 ccm frischer Frauenmilch digniert, alsdann werden in einem bestimmten Moment 5 ccm abgerahmter Kuhmilch hinzugegeben und die Gerinnungsdauer festgestellt.

Nr.	Digestionsdauer von Frauenmilch und Lab im Eisschrank	Digestionsdauer von Frauenmilch und Lab im Thermostaten	Gerinnungszeit
1.	—	—	2′55″
2.	—	15″	2′55″
3.	—	30″	3′23″
4.	—	2′	3′20″
5.	—	4′	3′20″
6.	3 h	4′	4′0″
7.	3 h	9′	4′25″

Mit gefrorener Frauenmilch erfolgte die Gerinnung im ersten Fall in 1′55″, mit der Magermilchkochsalzmischung in 1′40″.

Versuch 6 und 7 sind mit einer anderen Frauenmilchprobe ausgeführt als 1 bis 5 und mit ihnen nicht direkt vergleichbar.

Literatur.

1. Biedert, Untersuchungen über die chemischen Unterschiede der Menschen- und Kuhmilch. Stuttgart 1884.

2. Kobrak, Pflügers Archiv 80, 69, 1900.

3. Szydlowski, Prager med. Wochenschr. 1892, Nr. 32.

4. Fuld, Ergebn. d. Physiol. 1, 482, 1902; Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 106, 1902.

5. Moro, Centralbl. f. Bakt., **37**, 485 (nach Laqueur, Biochem. Centralbl. **1905**, 346).

6. v. Dungern, Münch. med. Wochenschr. **1900**, Nr. 47.

7. Schütze, Deutsche med. Wochenschr. **1902**, 804.

8. Ludwig F. Meyer, Berl. klin. Wochenschr. **1906**, Nr. 44.

9. Bordet, Annales de l'Inst. Pasteur **13**, 240, 1899.

10. Fuld, Verhdl. d. Ges. deutsch. Naturf. u. Ärzte, Kassel, Sept. 1903.

11. Korschun, Zeitschr. f. physiol. Chemie **36**, 141, 1902.

12. Morgenroth, Centralbl. f. Bakt. **26**, 349, 1899.

13. du Saar, Diss. Amsterdam 1890 (s. in Malys Jahresberichten).

14. Laqueur u. Sackur, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **3**, 193, 1902.

15. Tyndall, die Wärme (zit. n. Bredig, anorgan. Fermente, Leipzig 1901).

16. Siedentopf u. Zsigmondy, Annal. d. Physik **1**, 1, 1901.

17. Conradi, Münch. med. Wochenschr. **1900**, Nr. 5.

18. Siegfeld, Molkerei-Zeitg. Nr. 32, 1899.

19. van Bemmelen, Zeitschr. f. physikal. Chemie **36**, 141, 1902; Zeitschr. f. anorgan. Chemie **13**, 233 f.; **23**, 360, 1900.

20. Hofmeister, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **25**, 1; **27**, 295; **28**, 210.

21. Spiro, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 300, 1904.

22. Galeotti, Zeitschr. f. physiol. Chemie **40**, 492, 1904; **44**, 461, 1905.

Stoffwechselversuche an 32 Kindern im 3. bis 6. Lebensjahre mit besonderer Berücksichtigung des Kraftwechsels auf Grund direkter calorimetrischer Bestimmungen.

Von

Dr. Erich Müller.

(Aus dem tierphysiologischen Laboratorium der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin [Direktor: Geheimrat Prof. Dr. N. Zuntz] und dem Großen Friedrichs-Waisenhause der Stadt Berlin in Rummelsburg.)

(Eingegangen am 19. Juni 1907.)

Einleitung.

Die Stoffwechselversuche, über welche hier berichtet werden soll, wurden im November 1903 begonnen und im März 1904 beendet. Die Aufarbeitung der Exkrete und die Zusammenstellung des Materials nahmen bei der großen Zahl der Untersuchungen längere Zeit in Anspruch, so daß die Veröffentlichung erst jetzt erfolgen konnte. Die Versuche wurden an gesunden Kindern, welche im 3.—6. Lebensjahr standen, vorgenommen. Ich habe mich von vornherein auf dieses Lebensalter aus guten Gründen beschränkt. Stoffwechselversuche an Säuglingen, unternommen von zahlreichen ausgezeichneten Forschern, liegen in großer Zahl und guter Ausführung, soweit unsere Kenntnisse und die schwierige Technik es heute ermöglichen, vor. Das Lebensalter jenseits des 6. Jahres weist aber in seinem Stoffwechsel schon eine deutliche Annäherung an die Stoffwechselverhältnisse des Erwachsenen auf. Gerade das Kind im 3. bis 6. Lebensjahre ist es, welches gegenüber dem Säugling und Erwachsenen seine Besonderheiten hat. So ist es, um eine Tatsache aus den bisherigen Veröffentlichungen über Stoffwechselversuche an älteren Kindern herauszugreifen, das 7. und 8. Lebensjahr, in welchen die Eiweißaufnahme pro Tag und Kilogramm ein deut-

liches Absinken aufweist, und wo die Energieaufnahme ziemlich plötzlich geringer wird, und sich derjenigen des Erwachsenen nähert. Es wird später des genaueren noch auf dieses Verhältnis eingegangen werden. Die bisher vorliegende Literatur über die Ernährungs- und Stoffwechselverhältnisse im frühen Kindesalter (aber jenseits der Säuglingsperiode) ist verhältnismäßig sehr klein, besonders im Vergleich zu der immensen Anschwellung der Beobachtungen für das erste Lebensjahr.

Vollständige Stoffwechselversuche liegen eigentlich nur vor von Camerer, Uffelmann, Anna Schabanowa, Baginsky und P. Albertoni und I. Novi. Dazu kommen noch die Veröffentlichungen von Hasse und Herbst, welche aber nur die Nahrungsaufnahme berücksichtigen. Die in der ausgezeichneten Physiologie des Kindesalters von Carl Vierordt (1877/81) gemachten Angaben über den Stoffwechsel älterer Kinder beziehen sich auf die Versuche der ebengenannten Autoren (soweit sie damals schon vorlagen), besonders auf diejenigen von Camerer. Klassisch in ihrer Art sind die Untersuchungen Wilhelm Camerers an seinen eigenen Kindern. In jahrelanger, mühsamer Arbeit, fern von einem wissenschaftlichen Zentrum, ist der Autor bei seinen Untersuchungen dank seiner exakten Arbeit zu Resultaten gelangt, welche auch heute noch maßgebend sind. Die Kinderheilkunde wird dem ausgezeichneten und erfolgreichen Forscher für seine aufopfernde Arbeit stets Dank wissen. Die Untersuchungen Camerers erstrecken sich auf einen Zeitraum von nahezu 20 Jahren. Sie wurden eröffnet durch die erste Publikation aus dem Jahre 1876 im Korrespondenzblatt des Württembergischen Ärztlichen Vereins und fanden im Jahre 1894 und 1896 durch eine zusammenfassende Darstellung (5), „Der Stoffwechsel des Kindes von der Geburt bis zur Beendigung des Wachstums“, erschienen in Tübingen bei H. Laupp, ihren würdigen Abschluß.

Die Untersuchungen von Anna Schabanowa (15) aus dem Jahre 1879 an Kindern im 2.—13. Lebensjahre sind wertvoll durch die genauen Bestimmungen des Harnstoffs, der Menge und Dichte des Harns und der Kotmengen im Verhältnis zur Nahrungsaufnahme. Für die Aufstellung einer Eiweiß- und Energiebilanz haben sie nur sehr beschränkten Wert, da der Gehalt der Nahrung an den einzelnen Nährstoffen nur aus Mittelzahlen der Kost-

sätze im Kinderhospital des Prinzen Peter von Oldenburg geschätzt wurden, und, wie schon Camerer mit Recht hervorhebt, war diese Schätzung sicherlich oft eine wenig zutreffende. Die nach den Angaben der Verfasserin berechnete N-Bilanz weist doch ganz unerklärliche Differenzen auf.

Wichtiger und für unsere Kenntnis des kindlichen Stoffwechsels förderlich sind die Beobachtungen von Sophie Hasse (8) aus dem Jahre 1882 über die Nahrungsaufnahme bei sechs Kindern in zwei gutsituierten Familien. Ihre Angaben über die einzelnen Nährstoffe in der Nahrung ihrer Versuchskinder beruhen zum Teil auf eigenen Analysen, zum größeren Teil sind sie nach heute noch gültigen Zusammenstellungen (König) über den Nährstoffgehalt der Nahrungsmittel berechnet. So wichtig diese Angaben über die Nahrungsaufnahme der Kinder sind, so stehen doch ihre Berechnungen über die Ausnutzung der Nahrung ohne Analyse des Kotes und des Urins hinter den exakten und vollkommenen Stoffwechselversuchen so weit zurück, daß sie nicht in Betracht kommen können.

Einige genaue vollkommene Stoffwechselversuche verdanken wir noch A. Baginsky (3a und b) (unter Mithilfe seiner Schüler) aus den Jahren 1893 und 1897. Die Untersuchungen wurden zum großen Teile an kranken Kindern vorgenommen und kommen deshalb für mich nicht recht in Betracht, immerhin bieten doch einige seiner Kinder gesundheitlich so günstige Verhältnisse dar, daß sie zu einem Vergleich wohl herangezogen werden können.

Die Untersuchungen von P. Albertoni und I. Novi (1) betreffen eine italienische Arbeiterfamilie. Die jüngste Versuchsperson war ein 14jähriger Knabe. Die letzte Veröffentlichung auf Grund eigener Untersuchungen über die Nahrungsmengen gesunder Kinder ist die von W. Herbst (9) aus dem Jahre 1897. Die mit großer Sorgfalt und Genauigkeit ausgeführte Feststellung der täglichen Nahrungsaufnahme (allerdings ohne Analyse der Nahrung) macht die Arbeit wertvoll. Die Berechnung des Nährstoffgehalts der Nahrung geschah auch hier nach den Angaben von König. Aus demselben Jahre stammt ein Sammelbericht von Atwater und Langworthy (2) über die überhaupt bis zu dieser Zeit veröffentlichten Stoffwechselversuche an Menschen und Tieren. Darunter finden sich auch die bereits von mir zitierten Publikationen. Eigene Versuche haben sie nicht ver-

öffentlicht. Damit ist die Literatur erschöpft. Die älteren Berechnungen von Voit, Hildesheim und Simler können füglich unberücksichtigt bleiben, sie stellen nur allgemeine Mittelzahlen der Kostsätze in Kinderspitälern für verschiedene Altersklassen dar.

Lediglich historisches Interesse hat ein Stoffwechselversuch an einem 6 Jahre alten Knaben, welcher von Barral (4) in den Jahren 1847/48 in Paris angestellt worden ist. Die Berechnung des N ist eine so ungenaue, daß der Versuch heute nicht mehr in Frage kommen kann.

Im einzelnen werde ich bei der Besprechung meiner Versuchsergebnisse auf die Resultate der erwähnten Autoren näher eingehen.

Unsere Kenntnisse über den Stoffwechsel und die Energiebilanz bei Kindern jenseits der Säuglingsperiode beruhen, wie die eben angeführten Literaturangaben es deutlich vor Augen führen, doch nur auf wenigen (wenn auch zum Teil sehr genauen Einzelbeobachtungen), und im besonderen sind die Analysen des Harns und des Kotes noch sehr gering an Zahl, so daß eine Erweiterung des Beobachtungsmateriales gewiß wünschenswert ist. Vollkommen fehlen bis jetzt direkte calorimetrische Bestimmungen der Nahrung, des Kotes und Urins, Bestimmungen, wie sie für die Säuglingsperiode zahlreich vorliegen. Alle Aufstellungen einer Energiebilanz bei älteren Kindern, soweit sie überhaupt vorgenommen wurden, waren nur Berechnungen auf Grund der Rubnerschen Energiewerte der einzelnen Nährstoffe.

Die Durchführung der Versuche.

In dem meiner ärztlichen Leitung unterstellten „Großen Friedrichs-Waisenhause der Stadt Berlin in Rummelsburg“ stehen mir neben anderen auch 94 Betten (auf sechs Abteilungen verteilt) für schwächliche, der Erholung bedürftige Kinder zur Verfügung. Diese setzen sich in der Hauptsache zusammen aus ehemaligen Rachitikern, in der Entwicklung zurückgebliebenen, blassen und skrofulösen Kindern. Dank der warmen Fürsorge der Stadt Berlin für ihre Waisenkinder sind besonders in den letzten Jahren sehr gute hygienische Einrichtungen in den Krankenräumen getroffen worden, welche in Verbindung mit der ausgezeichneten Lage der ganzen Anstalt in einem großen Parke an den Ufern

des Rummelsburger Sees und mit Hilfe einer guten und reichlichen Verpflegung der Kinder sehr günstige Bedingungen darbieten, Kinder in ihrer Entwicklung zu fördern. Die Erholungszeit ist weit bemessen, viele Monate und, wenn es notwendig erscheint, Jahre genießt das Waisenkind diese Vergünstigungen, ehe es wieder in Außenpflege kommt. Es stand mir so für die beabsichtigten Untersuchungen ein selten reiches und passendes Material zur Verfügung. Ich wählte naturgemäß die Kinder aus, welche nach monatelanger Anwesenheit ein gutes Allgemeinbefinden zeigten und kurz vor der Entlassung standen. Ich habe, wie schon erwähnt, meine Untersuchungen auf das 3.—6. Lebensjahr beschränkt; zwei Kinder, die das 6. Lebensjahr um ein geringes überschritten hatten, habe ich unbedenklich dem 6. Lebensjahre eingereiht; dagegen habe ich innerhalb dieser engen Altersperiode möglichst viele Kinder zu dem Versuche benutzt, um individuelle Eigentümlichkeiten bei der Berechnung von Durchschnittszahlen, welche ja hauptsächlich von Wert sind, möglichst auszuschalten. Ich habe so an 32 Kindern vollkommene Stoffwechselversuche ausgeführt. Es war mir nur möglich, diese Arbeit zu bewältigen durch die eifrige Unterstützung von zwei Viktoriaschwestern, Fräulein Johanna Bütow und der Oberschwester der Anstalt, Fräulein Somolik, welche mir in selbstloser und sorgfältiger Arbeit zur Seite standen. Ich sage beiden an dieser Stelle meinen Dank.

Von den Kindern standen

7 im 3. Lebensjahre,
9 „ 4. „
6 „ 5. „
10 „ 6. „
———
32

Die einzelnen Kinder waren untereinander sehr verschieden, und dies war beabsichtigt. Es waren darunter dünne und schlanke Kinder gegenüber dicken mit reichlichem Fettansatz, Kinder mit lebhaftem Temperament wechselten mit solchen, deren Ruhe und Behäbigkeit den zukünftigen Phlegmatiker vorausahnen ließen. Ich habe auf diese Mannigfaltigkeit des Untersuchungsmaterials, wie gesagt, Wert gelegt und die Eigenschaften später bei der Besprechung der Versuchsergebnisse eingehend berück-

sichtigt. Alle Kinder aber waren bei bestem Wohlbefinden und frei von irgend welchen Störungen der Funktionen. Die Gewichte der Kinder waren im Verhältnis zu ihrem Lebensalter oft geringer als normal, wie es bei der Auswahl des Materials auch von vornherein zu erwarten war. Ich habe Mädchen und Knaben zum Versuch herangezogen, und zwar

23 Knaben und
9 Mädchen
32 Kinder

Das Übergewicht der Knaben hat seinen Grund einmal in der bequemeren Gewinnung des Urins, dann standen mir in dieser Zeit zufällig mehr passende Knaben zur Verfügung. Die Versuche wurden sämtlich in der kühlen Jahreszeit vorgenommen, um möglichst gleichmäßige Bedingungen zu haben. Es ist ja bekannt und von Rubner immer wieder und zuletzt in seinem zusammenfassenden Werke („Die Gesetze des Energieverbrauches bei der Ernährung") betont und durch zahlreiche Versuche belegt worden, daß die thermischen Verhältnisse der Umgebung auf den Energieverbrauch eines Individuums den weitgehendsten Einfluß haben. Es ist deshalb sicher fraglich, ob man überhaupt Stoffwechselversuche, welche in der heißen Sommerzeit angestellt sind, mit solchen während der kühlen Jahreszeit ausgeführten ohne weiteres vergleichen kann. Ich habe deshalb meine Versuche mit nur geringen Unterbrechungen hintereinander in der Zeit vom November 1903 bis März 1904 ausgeführt und die Aufarbeitung des vorher getrockneten Kotes und zum Teil der getrockneten Nahrungsmittel auf den Sommer verlegt. Der Urin mußte natürlich gleich verarbeitet werden, da die Zersetzungsgefahr trotz guter Konservierungsmittel doch groß ist, und damit die Gefahr besteht, bei der Analyse falsche Resultate zu erzielen. Die Kinder waren sämtlich während des Vorversuches und des direkt sich anschließenden eigentlichen Versuches in demselben Raume untergebracht, sie wurden zusammen spazieren geführt und schliefen zusammen. Die Temperatur des Wohn- resp. Schlafraumes wurde möglichst gleichmäßig gestaltet und Temperatur- und Feuchtigkeitsbestimmungen sowie Ablesungen des Barometerstandes wurden, wenn auch mit einigen Lücken, ausgeführt. Respirationsversuche habe ich nicht ausführen können. Ich hoffe aber durch

die von mir getroffenen Maßregeln die thermischen Verhältnisse bei meinen Versuchskindern so gleichmäßig gestaltet zu haben, daß die gefundenen Werte vergleichbar sind. Die Werte für die Energie- und Eiweißbilanz sind sozusagen als Maximumwerte aufzufassen, besonders mit Bezug auf den Energiebedarf der Kinder. Sie sind es vielleicht noch mehr deswegen, weil die Nahrungsaufnahme der Kinder nicht beschränkt wurde. Es lag bei mir die Absicht vor, gerade verschiedenartige Kinder mit wechselndem Appetit auf ihre Energiebilanz hin zu untersuchen.

In einem 5—7 Tage dauernden Vorversuche wurde die freiwillige Nahrungsaufnahme möglichst genau festgestellt, um für den eigentlichen Versuch die täglichen Portionen festsetzen zu können. Es ist für eine genaue Bestimmung der Nahrungsaufnahme sehr wünschenswert, ja fast notwendig, daß die Versuchskinder die ihnen einmal zugewogenen Speisen auch vollständig zu sich nehmen. Zum mindesten ist es sehr mißlich, aus der Differenz der zugewogenen Nahrung und etwaiger Reste die Aufnahme feststellen zu müssen. Die Veränderung des Wassergehalts der einzelnen Speisen — z. B. von grünen Gemüsen — während der Zubereitung ist doch ein ebenso große, wie schwankende. Es ist mir nun tatsächlich gelungen, mit Hilfe der jedesmaligen Vorversuche die von den Kindern gern genommenen Einzelportionen festzustellen. Derartige Vorversuche sind noch aus anderen Gründen notwendig. Einmal ist es leicht möglich, durch den Diätwechsel beim Beginn des Versuches eine im Vergleich zu der vorangegangenen an Wasser und Salzen reichere oder ärmere Nahrung einzuführen und damit eine Wasserretention oder -Abgabe zu bewirken. Dadurch können Gewichtsschwankungen herbeigeführt werden, welche mit dem Ansatz oder der Abgabe von Fleisch oder Fett nichts zu tun haben und zu Täuschungen und Irrtümern bei der Aufstellung der Bilanz führen müssen. Haben dagegen die Kinder in einem mehrtägigen Vorversuche sich an die Kost gewöhnt und ihren Körper sozusagen auf dieselbe eingestellt, so werden dann Gewichtsdifferenzen mit größerem Recht auf tatsächlichen Gewebeansatz resp. -Verlust bezogen werden können. Die Gewichtsschwankungen an den einzelnen Versuchstagen sind ohnedies zum Teil erstaunlich große und unregelmäßige, so daß der Gedanke nicht von der Hand zu weisen ist, daß trotz aller Vorsichtsmaßregeln bei einigen Kindern Wasser-

retentionen resp. -Abgaben eingetreten sind, welche in sehr unangenehmer Weise bei der Berechnung des Energiebedarfs in Erscheinung treten. Beim Durchschnittsgewicht gleichen sich die Schwankungen gut aus, so daß die Bilanzaufstellungen pro Tag und Kilogramm Durchschnittsgewicht der Wahrheit sicher sehr nahekommen. Ein anderer Punkt ist die Beeinflussung des Appetites. Es ist allgemein bekannt, welchen großen Einfluß eine Änderung der Diät auf die Nahrungsaufnahme hat, und wir haben es auch diesmal wieder gesehen. Die meisten Kinder zeigten bei Beginn des Vorversuches einen weit regeren Appetit infolge des Reizes der Neuheit, welchen die zum Teil ungewohnten Speisen hervorriefen. Es ist natürlich, daß dadurch eine von der Norm abweichende Nahrungsaufnahme eintritt, die leicht zu fälschlichen Anschauungen über die gewöhnliche Nahrungsaufnahme der Kinder führen kann. Die Einschiebung des orientierenden Vorversuches stellt sozusagen das Gleichgewicht wieder her.

Gewiß wichtig ist auch die Feststellung von Minimumwerten für die Nahrungsaufnahme von gut gedeihenden Kindern jenseits der Säuglingsperiode, und im besonderen für den Eiweißkonsum. Solche Bestimmungen, wie sie schon Hasse fordert, sind aber auch ungemein schwierig. Es würde monate- wenn nicht jahrelanger Beobachtung bedürfen, um festzustellen, ob ein Kind bei einem gewissen Minimum von Nahrungseiweiß auch wirklich gedeiht, dabei ist der Begriff des Gedeihens eines Kindes doch gewiß kein absolut feststehender. Die Beurteilung des Aussehens eines Kindes, des Turgors der Gewebe und vieler anderer Momente ist in hohem Maße von der subjektiven Ansicht des Beobachters abhängig. Es wird auch niemals jemand sicher entscheiden können, ob ein Kind nicht bei einer etwas reichlicheren N-Zufuhr noch besser vorwärts gekommen wäre. Die bedeutende Arbeit von Chittenden (6) (1904) ist gewiß von außerordentlichem Interesse. Der Verfasser hat in ausgezeichneten, exakten Stoffwechselversuchen bei sich selbst und bei 25 jungen, kräftigen Männern festzustellen vermocht, daß es möglich ist, den Eiweißbedarf von Erwachsenen mit einer Menge zu decken, welche nur 48—57% des Voitschen Wertes ausmacht. Es ist allerdings dabei zu bemerken, daß seine Versuchspersonen bis zur Einstellung auf das niedrige N-Gleichgewicht mehr oder weniger große Gewichtsverluste, und damit auch N-Abgaben erlitten haben, wenn auch in der Haupt-

sache solche an Fett und Wasser. Chittenden selbst hat mit einer Eiweißaufnahme von 0,64—0,7 g pro Tag und Kilogramm und mit einer Gesamtenergiezufuhr von 27—28 Cal. seinen Körperbestand längere Zeit zu behaupten gewußt. Aber es ist doch außerordentlich bedenklich, ja ich möchte sagen gefährlich, die Resultate von Chittenden auf das Kindesalter zu übertragen. Der Erwachsene hält den Eiweißbestand seines Körpers fest und retiniert im allgemeinen nur so viel N, wie er zum Ersatz für den fortwährenden Verlust an Zelleiweiß gebraucht, das Kind dagegen wächst und hat Eiweiß nötig zur Vermehrung seines Zellstaates. Es wird mit einem gewissen Recht betont, daß einerseits eine reichliche Ernährung mit Eiweiß die Verdauungstätigkeit übermäßig in Anspruch nehme, daß andrerseits durch im Darm bei der Eiweißzersetzung entstehende Toxine einem mit Eiweiß überernährten Individuum Gefahr drohen könne, und daß deshalb der N-Konsum möglichst zu beschränken sei; aber, wie schon Magnus-Levy (13) mit Recht hervorhebt, ist es doch sehr fraglich, ob die Gefahren einer Überlastung mit N-Stoffwechselprodukten wirklich so groß sind, da dieselben Körper auch bei einer geringen d. h. begrenzten N-Zufuhr entstehen. Für den Säugling hat erst in letzter Zeit Czerny auf Grund seiner großen Erfahrung sich dahin ausgesprochen, daß ihm Schädigungen des Säuglings, welche auf das Milcheiweiß zurückzuführen seien, gegenüber den häufigen Nachteilen von Fett und Kohlehydratüberernährung nicht bekannt sind. Die durch einen Eiweißüberfluß ja zweifellos geschaffene Steigerung des Stoffwechsels (Erhöhung der Verdauungsarbeit, Vermehrung der Wärmeproduktion und in Abhängigkeit davon eine gesteigerte Wasserabgabe durch die Haut) ist aber sicher niemals so gefährlich, wie es eventuell gefahrbringend sein kann, wenn der wachsende Organismus einmal längere Zeit hindurch zu wenig Eiweiß enthält. Es erscheint mir zum mindesten zweifelhaft, ob es in erster Linie unser Ziel sein soll, ein Eiweißminimum für das kindliche Alter festzustellen. Die Erfahrungen, wie sie an großen Anstalten bei möglichst vielen gesunden Kindern auf Grund von gelegentlichen Stoffwechselversuchen über die Energiezufuhr und den Eiweißkonsum gesammelt sind, geben wichtige Aufschlüsse für die Praxis, Stoffwechselversuche nach der Art von Chittenden sind theoretisch interessant.

Ich habe die Kinder in fünf Gruppen untersucht:

die	I. Gruppe,	6 Kinder,	im November 1903,
„	II. „	5 „	„ Dezember 1903,
„	III. „	6 „	„ Januar 1904,
„	IV. „	6 „	„ Februar 1904,
„	V. „	9 „	„ März 1904.

Jeder Versuch dauerte 6 Tage und schloß sich, wie erwähnt, an einen mindestens gleich lange währenden Vorversuch an. Nur bei einem Kinde — Wenzel, Nr. 6 der I. Reihe — mußte der Versuch aus äußeren Gründen auf 4 Tage beschränkt werden. Die Kinder waren andauernd unter Beaufsichtigung, um zu verhindern, daß dieselben andere Speisen wie die Versuchsnahrung zu sich nahmen. Der Versuch begann stets früh um 7 Uhr und dauerte bis zum nachfolgenden 7. Tage früh um 7 Uhr, so daß sich die Versuchszeit auf volle 6×24 Stunden erstreckte. Am Vorabend jedes Versuches erhielt das Kind eine reichliche Portion Heidelbeerkompott zur Abgrenzung des Kotes, also volle 12 Stunden vor Beginn des Versuches. Der Nachturin wurde um 6½ Uhr kurz nach dem Aufstehen der Kinder entleert und nicht in den Versuch hineinbezogen. Es bestand so die Sicherheit, daß der nach dem ersten Frühstück entleerte Urin auch tatsächlich der ersten Versuchsnahrung angehörte. In entsprechender Weise wurde der am Morgen des 7. Tages entleerte Urin als letzter in den Versuch einbezogen. Um 7 Uhr erhielt das Kind dann wieder eine Portion Heidelbeerkompott zur Abgrenzung des Kotes. Beide Heidelbeerstuhlgänge wurden natürlich nicht dem Versuch zugerechnet. Es lag so zwischen Abgrenzungsmahlzeit und erster resp. letzter Versuchsmahlzeit jedesmal ein Zeitraum von rund 12 Stunden, in welchem der vorhergehende Kot genügend weit im Darm vorgeschritten war, um eine gute Abgrenzung zu ermöglichen. Tatsächlich erfolgte dieselbe auch meist sehr bequem, wenn auch diese Methode hinter der beim Säugling geübten Abgrenzungsmethode mit Schokolade an Genauigkeit zurücksteht.

Der Urin wurde in Flaschen gesammelt, welche mit alkoholischer 10prozentiger Thymollösung beschickt waren. Der anfängliche Zusatz von 20 ccm erwies sich bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl als zu hoch bemessen. Der Urin schäumte stark auf und Thymolkristalle, welche sich in dem Urin ausschieden,

zeigten sich als eine unangenehme Zugabe. Es wurden deshalb schon in der zweiten Periode nur 10 und später nur noch 7,5 ccm zugesetzt. Bei der gewöhnlich vorgenommenen Verdünnung des Urins auf 750 ccm ergab sich eine 0,1 prozentige Thymollösung. Dieser Zusatz erwies sich als genügend, um den auf Eis oder wenigstens bei der kühlen Winterszeit bei der Außentemperatur aufbewahrten Urin auf viele Wochen vor Zersetzung zu bewahren. Bei den Knaben wurde der Urin vermittels eines Trichters direkt in die Flasche gelassen, bei den Mädchen wurde ein gläsernes Urinar mit weiter Öffnung benutzt. Ein Dreifuß, wie er in jedem Laboratorium zur Verfügung steht, und in dessen Eisenring an einer Seite eine Lücke zur Aufnahme der Geschlechtsteile gefeilt war, gab, mit Watte gepolstert, einen primitiven, aber sehr nützlichen und brauchbaren kleinen Sitz, um Urin und Kot bequem getrennt aufzufangen. Die Menge des Urins wurde täglich im Meßzylinder bestimmt und in einem graduierten Meßkolben bis zu einem bestimmten Volumen aufgefüllt. Die Urinare und Glastrichter wurden durch heißes Wasser vermittels einer Spritzflasche gereinigt, das Spülwasser gemessen, zugefügt und in Rechnung gesetzt.

Der Kot wurde frisch sofort nach der Entleerung gewogen und unmittelbar nach der Wägung auf dem Wasserbade schnell getrocknet. Dabei wurden dem Kote einige Kubikzentimeter absoluten, salzsauren Alkohols zugesetzt, um die Trocknung zu beschleunigen. Diese vorläufige Trocknung wurde möglichst schnell herbeigeführt, um etwaige Zersetzungen zu vermeiden. Die weitere vollkommene Trocknung geschah dann im Trockenofen bei 70—80° C. In dem lufttrocknen Kote wurde dann, nachdem er sehr fein gepulvert war, der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Es war mir leider nicht möglich, die N-Bestimmung im frischen Kot vorzunehmen. Der Stickstoffverlust beim Trocknen ist, wenn man so vorsichtig mit Bezug auf die Temperaturen und so schnell arbeitet, wie ich es hier geschildert habe, sehr gering. Caspari hat einen Verlust von 2% an Stickstoff bei der Trocknung in Versuchen, welche speziell darauf Rücksicht nahmen, festgestellt. Bei dem relativ geringen Stickstoffverlust, welchen Kinder überhaupt durch den Kot erleiden — es handelt sich um Werte von etwa 0,07 g pro Tag und Kilogramm — spielt ein weiterer Abzug von 2% des Wertes keine Rolle und kann das Resultat nicht beeinflussen. Die Differenz aus der Summe der

frischen Kotgewichte einerseits und dem Gewichte des in einer tarierten Glasflasche gesammelten lufttrocknen Kotes ergab den Wassergehalt des frischen Kotes. Die Stuhlgänge wurden in vorher gewogenen, emaillierten Blechschalen aufgefangen. Zur Säuberung der Kotschalen nach der Trocknung wurde mit destilliertem Wasser angefeuchtete Watte benutzt. Die Stickstoffbestimmung der Watte ergab, da der prozentische N-Gehalt des Kotes bekannt war, die Menge Kot, welche in der Watte enthalten war.

Die Ernährung gestaltete sich ziemlich schwierig. Auf der einen Seite war das Bestreben vorhanden, die Kost möglichst reichhaltig zu gestalten und den Kindern möglichst verschiedenartige Speisen vorzusetzen, auf der anderen Seite mußte doch eine gewisse Auswahl getroffen werden, um einmal die analytischen Untersuchungen nicht zu weit auszudehnen, dann um die Nahrungsmittel in gut haltbarem Zustande und gut analysierbarer Form zu besitzen. Ich hoffe, durch den Mittelweg, welchen ich eingeschlagen habe, vor allem die Forderung nach einer genügend gemischten Diät ausreichend erfüllt zu haben. Die Nahrung bestand aus folgenden Speisen:

1. Milch, 2. Konservenfleisch (und zwar geschabtes und in Butter gebratenes Ochsenfleisch), 3. Semmel, 4. frische Butter, 5. getrocknetes Gelbei, 6. Zucker, 7. Mondamin, 8. Apfelmarmelade, 9. Reis, 10. Kartoffeln, 11. Spinat, 12. Schoten, 13. Mohrrüben. Die letzten vier waren Dörrgemüse.

Aus diesen 13 verschiedenen Nahrungsmitteln wurden die verschiedenen Menüs der Mahlzeiten zusammengestellt. Alkohol in irgend welcher Form bekamen die Kinder nicht. Das Getränk bestand, abgesehen von der Milch, in Leitungswasser in abgemessenen Mengen. Es ist natürlich, daß nicht alle Kinder auch sämtliche Nahrungsmittel zu sich genommen haben. Besonders bei den Gemüsen zeigte sich öfters gegen einige derselben ein großer Widerwille, welcher sich bis zum Erbrechen der Nahrung steigerte. Diese Gemüse, im Vorversuch ermittelt, wurden dann im eigentlichen Versuch fortgelassen. Die anderen Speisen wie Fleisch, Brot, Milch, Butter, Zucker, Gelbei, Marmelade und Semmeln wurden von allen Kindern — nur in verschiedener Quantität — gern genommen.

Ich komme zur Besprechung der einzelnen Nahrungsmittel und der Form, in welcher dieselben gereicht wurden.

1. Die Milch. Ich habe sterilisierte Milch, welche aus einer großen Molkerei bezogen wurde, verwandt, und zwar bekamen die Kinder der ersten drei Gruppen die gleiche Milch — mit Nr. I im Protokoll bezeichnet. Die Kinder der IV. und V. Gruppe eine andere Milch (Nr. II des Protokolls), aber aus der gleichen Molkerei bezogen. Beide Milchsorten hielten sich sehr gut. Ich habe keine einzige Flasche trotz der langen Aufbewahrungszeit — bis drei Monate — verloren. Jedes Kind bekam am Morgen des Versuchstages eine genau abgewogene Milchflasche zugeteilt, aus welcher es zu jeder Mahlzeit nach Belieben trinken konnte. Zu den Mehlmilchspeisen — Milchreis, Mondaminspeise — wurde die notwendige Milch gleichfalls dieser Flasche entnommen. Am Abend des einzelnen Versuchstages wurde dann die Flasche wieder gewogen, und so das genossene Tagesquantum festgestellt. Über die Milchaufnahme zu den einzelnen Mahlzeiten geben meine Zahlen also keinen Aufschluß. Ich habe die Feststellung unterlassen, um die ohnehin zahlreichen Wägungen nicht zu sehr zu vermehren. Es ist selbstverständlich, daß vor jeder Milchentnahme die Flasche kräftig geschüttelt wurde.

2. Konservenfleisch. Dieses wurde mir in luftdichten Dosen von einer großen Fabrik geliefert, welche in der Herstellung von Konserven für wissenschaftliche Versuche große Erfahrung besitzt und von berufener Seite erprobt ist. Jede einzelne Dose enthielt drei kleine Beefsteaks aus je 50 g frischem, gehacktem und in je 10 g frischer Butter gebratenem Fleisch. Der Inhalt einer Dose entsprach somit 150 g frischem, fettarmem Ochsenfleisch und 30 g frischer Butter. Ich verfuhr nun in der Weise, daß die größeren Versuchskinder zwei Dosen während des ganzen Versuchs erhielten, d. h. im ganzen in 6 Tagen zweimal 150 g Fleisch und 30 g Butter oder pro Tag 50 g Fleisch und 10 g Butter; die kleineren bekamen nur eine Dose während des ganzen Versuches, d. i. pro Tag 25 g Fleisch und 5 g Butter; je nach den Ermittlungen im Vorversuche wurden nun einem Kinde eine oder zwei Dosen während des Versuches zugeteilt. Es liegt in dieser Dosierung ein gewisser Schematismus und Zwang, aber es gab für mich keinen dritten Weg, wenn ich die aufgenommene Fleischmenge genau bemessen wollte, da nach langwierigen Verhandlungen mit der Firma die eben angegebenen Fleischmengen als die geringsten bezeichnet waren, welche eine Dose enthalten

müßte. Die besondere Herstellung noch kleinerer Dosen hätte den Preis unverhältnismäßig erhöht. Die Befürchtung, durch die gleichmäßig hohe Eiweißzufuhr bei den Kindern, welche zwei Dosen erhielten resp. durch die gleichmäßig niedrige Eiweißzufuhr bei den Kindern, welche nur eine Dose während des Versuches verzehrten, den Eiweißkonsum pro Tag und Kilo zu ungleichmäßig zu gestalten, war insofern nicht groß, als das Fleisch überhaupt als Eiweißquelle in der Nahrung erst in dritter Stelle stand, während durchschnittlich 2—4 mal so viel Eiweiß mit der Milch und 1—2 mal so viel mit der Semmel aufgenommen wurde. Und diese beiden Nahrungsmittel verzehrten die Kinder ohne jede Einschränkung. Es war also reichlich für einen Ausgleich gesorgt, welcher, wie die Versuchsergebnisse es zeigen, im großen und ganzen auch tatsächlich eintrat. Die Beefsteaks wurden den Kindern zusammen mit den Gemüsen gereicht und in diesen kurz gedämpft.

3. Semmel. Aus dem großen täglich frisch für ca. 250 Kinder gelieferten Semmelquantum wurden für jedes Kind an jedem Morgen eine bestimmte Menge abgewogen, in einem Blechkasten aufbewahrt und am Abend das genossene Tagesquantum, durch eine zweite Wägung das Gewicht wieder festgestellt. Zwei weitere Semmeln wurden täglich zur Untersuchung aufbewahrt und ihr Gewicht frisch festgestellt. Also auch hier geben meine Werte nur die Menge an, welche ein Kind während eines Tages genossen hat.

4. Frische Butter. Am Beginn des Versuches wurde für jedes Kind in einem sehr genau auf der chemischen Wage tarierten und mit einem kleinen Metallöffel — zum Entnehmen der Butter — versehenen Gefäß, eine bestimmte, für den ganzen Versuch ausreichende Menge Butter genau abgewogen und am Abend jedes Versuchstages das verbrauchte Tagesquantum festgestellt. Die von mir verwandte Butter wurde von der Anstalt in großen Fässern bezogen und war somit ein sehr gleichmäßiges Präparat.

5. Gelbei. Das Gelbei wurde mir in getrocknetem Zustande von einer bewährten Fabrik geliefert. Diese Form der Darreichung war notwendig, um ein stets gleichmäßiges, haltbares und genau dosierbares Präparat zu besitzen. Dasselbe hielt sich sehr gut und wurde von den Kindern gern genommen. Auch hier wurde stets nur das genossene Tagesquantum festgestellt.

6. Der Zucker war gewöhnlicher Kochzucker. Aus dem für alle Versuche und Kinder reichlich bemessenen und in einer großen Glasflasche trocken aufbewahrten Gesamtquantum wurde am Beginn jedes Versuches in genau tarierten Flaschen ein für jedes Kind erfahrungsgemäß ausreichendes Quantum abgewogen und die tägliche Aufnahme jeden Abend durch Wägung bestimmt.

7. In gleicher Weise wurde mit dem Mondamin verfahren. Es wurde auch hier am Beginn der Versuche ein großes Quantum angeschafft und in einem luftdichten Gefäße aufbewahrt, so daß dasselbe Präparat bei allen Versuchen zur Anwendung kam.

8. Die Marmelade war reine Apfelmarmelade von dicker Konsistenz und wurde in einem großen, luftdicht verschlossenen Blecheimer aufbewahrt. Es war leicht mit einem Löffel ein beliebiges Quantum herauszunehmen und zu wiegen. Es kam für alle Versuche dasselbe Präparat zur Benutzung.

9. Der Reis war ein ausgesucht gutes Material in Körnerform.

10. Die Gemüse (Kartoffeln, Spinat, Mohrrüben und Schoten) waren, wie schon erwähnt, Dörrgemüse, welche mir von einer bekannten Firma in großen Mengen in Blechdosen — luftdicht verschlossen — geliefert und auch während der Versuche so aufbewahrt wurden. Diese Dörrgemüse haben sich sehr gut bewährt. Die Kinder nahmen sie gern — abgesehen von der individuellen Abneigung mancher Kinder gegen die eine oder andere Sorte. Der Geschmack war ein guter, wovon ich mich öfters selbst überzeugt habe. Weit wichtiger war jedoch die genaue Dosierungsmöglichkeit, die bequeme Handhabung und die Verwendung ein und desselben gleichmäßigen Präparates für alle Versuche. Bei dem doch sehr schwankenden Wassergehalte frischer grüner Gemüse ist die Berechnung des Nährstoffgehaltes und des Energiewertes eine sehr mißliche und schwierige Aufgabe, welche nur annähernd genaue Werte geben kann. Dazu ist die Beschaffung gleichwertiger Gemüse für einen auf viele Monate ausgedehnten Versuch ungemein schwierig, wenn nicht überhaupt unmöglich. Dieser Sorge wurde ich bei der Verwendung der luftdicht verschlossenen Dörrgemüse völlig enthoben. Es war ein leichtes, für jede Mahlzeit eine kleine Menge abzuwägen und dieselbe mit Zusatz von Butter, Salz und Wasser zu einem wohlschmeckenden Gemüse herzurichten. Die Wasserabgabe während der Zu-

bereitung konnte dabei natürlich unbedenklich vernachlässigt werden.

Aus diesen Nahrungsmitteln wurden nun die einzelnen Mahlzeiten in möglichst mannigfaltiger Weise zusammengestellt.

Die Kinder bekamen täglich fünf Mahlzeiten. Im allgemeinen bestand das erste Frühstück aus Milch, Semmel und Butter, das zweite Frühstück aus Semmel mit Marmelade, Butter oder Gelbei; das Mittagbrot setzte sich zusammen aus Fleisch, Kartoffeln, Gemüse und Semmel nach Belieben. Zur Vesper wurde gewöhnlich nur ein reiner Milchtrunk gereicht, einige Kinder aßen etwas Semmel dazu. Zum Abendbrot bekamen die Kinder Milchreis oder Milchmondaminbrei, etwas Buttersemmel mit Gelbei und ev. ein Glas Milch.

In den drei letzten Versuchsreihen wurde das täglich getrunkene Wasser gleichfalls gemessen und überhaupt, worauf ich noch später zurückkomme, das Gewicht jeder Mahlzeit zwecks Berechnung der Perspiratio insensibilis festgestellt.

Der Nährwert der einzelnen Nahrungsmittel:

1. Milch Nr. I — verwandt bei Versuchsreihe I, II, III.

a) 0,48% N, b) 3,325% Fett, c) 726 Cal. in 1 l, d) D = 1020,9 bei 15° C.

Milch Nr. II — verwandt bei Versuchsreihe IV und V.

a) 0,477% N, b) 2,96% Fett, c) 671 Cal. in 1 l, d) D = 1030,8 bei 15° C.

Die täglich getrunkene Milch wurde gewogen, die analytischen Bestimmungen gelten in Volumen pro Kubikzentimeter. In den Protokollen ist die genossene Milch vermittels des von mir ermittelten Wertes für die D in Kubikzentimeter umgerechnet und alle Werte auf das Volumen bezogen.

2. Büchsenfleisch. Inhalt einer Büchse 150 g frisches Fleisch und 30 g frische Butter.

Mittelwert aus drei Analysen:

a) N = 4,951 g absolut pro Büchse (berechnet aus: 35,1584 g absolut trocknem und fettfreiem Fleisch mit 14,081% N).

b) Fett = 28,425 g absolut pro Büchse. Gefunden aus 1. dem Ätherextrakt der ganzen Büchse = 22,55 g und 2. aus dem Ätherextrakt des getrockneten Fleisches = 5,875 g, in Summa 28,425 g.

c) Der Energiewert. 1 g des getrockneten fettfreien Fleischpulvers = 5,051 Cal. Daraus berechnet sich folgender absolute Energiewert:

1. Für das ganze Fleisch (35,1584 g · 5,051 Cal.) = 177,585 Cal.
2. Für das Gesamtfett (28,425 g · 9,3 Cal.) = 264,353 „

Der Inhalt einer Büchse stellt so einen Energiewert dar von Sa. 441,938 Cal.

Der Energiewert des Fettes ist mit 9,3 Cal. pro Gramm angenommen worden, da dasselbe ein Gemisch von viel Butter (9,23 Cal.) und wenig Rinderfett (9,50 Cal.) darstellte.

3. Die zur Analyse bestimmten Semmeln der ersten Versuchsreihe gingen leider verloren. Ich war deshalb gezwungen, aus den Analysen der übrigen vier Versuchsreihen den Mittelwert zu berechnen und diesen hier einzusetzen. Der eventuelle Fehler dürfte nur gering sein. Alle Analysenwerte der Semmeln gelten für die frischen Semmeln, wie sie die Kinder tatsächlich verzehrt haben. Die Bestimmungen selbst wurden in der getrockneten Semmel ausgeführt und dann die Werte unter Berücksichtigung des — nebenbei bemerkt sehr großen — Wasserverlustes umgerechnet.

1. Frische Semmel der I. Versuchsreihe (Durchschnittswert, berechnet aus den Semmelanalysen der vier folgenden Versuche).
a) N = 1,117%, b) Energiewert = 2,767 Cal. pro 1 g.

2. Frische Semmeln der II. Versuchsreihen.
a) N = 1,108%, b) Energiewert = 2,584 Cal. pro 1 g.

3. Frische Semmeln der III. Versuchsreihe.
a) N = 1,386%, b) Energiewert = 3,399 Cal. pro 1 g.

4. Frische Semmeln der IV. Versuchsreihe.
a) N = 0,964%, b) Energiewert = 2,566 Cal. pro 1 g.

5. Frische Semmeln der V. Versuchsreihe.
a) N = 1,009%, b) Energiewert = 2,518 Cal. pro 1 g.

Die Werte der II., IV. und V. Semmel stimmen gut miteinander überein, nur die Semmel der III. Reihe zeigt auffallend hohe Werte für N und Energie. Das frische Präparat war ein sehr gut durchgebackenes und sehr trocknes, und dementsprechend war auch der Wasserverlust während der Aufbewahrung ein sehr geringer im Vergleich zu dem der übrigen. Nachfolgende Zusammenstellung zeigt, daß die Differenz in der Verbrennungswärme zwischen ausgetrockneter und frischer Semmel bei Versuch III ein weit geringerer ist als bei den übrigen, und zwar 0,8 gegenüber 1,2—1,4 Cal. Dieses Verhalten erklärt vollkommen den Energiewert der frischen Semmel.

Energiewert der Semmeln pro 1 g.

	in trocknem Zustande	in frischem Zustande	Differenz
II. Versuchsreihe	3,778	— 2,584 Cal.	= 1,194 Cal.
III. „	4,229	— 3,399 „	= 0,830 „ !
IV. „	3,68	— 2,566 „	= 1,404 „
V. „	3,880	— 2,518 „	= 1,362 „

Daraus erhellt, daß der Nährwert gut ausgebackenen und trockenen, d. h. wasserarmen Gebäckes doch nicht unwesentlich höher ist als der von weniger scharf gebackenem.

4. Frische Butter mit 12,43% Wassergehalt.

a) N = 0,138% (direkt bestimmt), b) Energiewert = 8,085 Cal. pro 1 g (angenommen).

5. Gelbei (lufttrocken).

a) N = 5,092%, b) Energiewert = 7,525 Cal. pro 1 g, c) Fett = 53,14%.

6. Kochzucker (lufttrocken). Brennwert mit 3,96 Cal. pro 1 g angenommen.

7. Mondamin (lufttrocken). Brennwert = 3,553 (berechnet aus dem angenommenen Brennwerte von 4,1 Cal. pro 1 g absolut trockenem Mondamin und dem bestimmten Wassergehalt von 13,35% für das hier verwandte Mondamin.

8. Apfelmarmelade (eßfertig).

a) N = 0,066% (direkt bestimmt), b) Brennwert = 1,877 Cal. pro 1 g (nach Caspari).

9. Körnerreis.

a) N = 0,87%, b) Brennwert = 3,963 Cal. pro 1 g.

10. Kartoffeln (lufttrocknes Dörrgemüse).

a) N = 0,784%, b) Brennwert = 3,655 Cal. pro 1 g.

11. Spinat (lufttrocknes Dörrgemüse).

a) N = 3,708%, b) Brennwert = 3,543 Cal. pro 1 g.

12. Schoten (lufttrocknes Dörrgemüse).

a) N = 3,82%, b) Brennwert = 4,059 Cal. pro 1 g.

13. Mohrrüben (lufttrocknes Dörrgemüse).

a) N = 0,816%, b) Brennwert = 2,945 Cal. pro 1 g.

Im Anschlusse an die gegebenen Daten ist es gewiß von Interesse, den Eiweißgehalt und Brennwert einiger Speisen in eßfertigem Zustande kennen zu lernen.

Die Werte sind genau nach den Analysen der einzelnen Zutaten berechnet, jedoch sind die einzelnen Nährwerte nur sehr annähernde, weil trotz gleicher Zutaten die Gewichte der einzelnen fertigen Speisen häufig nicht unwesentlich differierten. Die Intensität der Feuerung, die Zeit des Kochens, sind doch Momente, welche trotz aller Sorgfalt nicht gleichmäßig zu gestalten sind. Durch die Verschiedenheit des damit verbundenen Wasserverlustes wird das schließliche Gewicht der Speisen erheblich beeinflußt. Die nachfolgenden Werte sind das Resultat zahlreicher Wägungen fertiger Speisen, deren Zutaten, wie gesagt, genau bekannt waren. Das Gewicht aller Speisen ist mit 200 g in eßfertigem Zustande angenommen, um ihren Nährwert untereinander vergleichen zu können.

1. Mohrrübengemüse, hergestellt aus Mohrrüben, Wasser und Salz.

Gewicht 200 g, Stickstoffgehalt 1,3 g, Brennwert = 75 Cal.

Mit einem Butterzusatz von 10 g steigt der Eiweißgehalt auf 1,31 g (also nur ein minimales Plus), der Brennwert jedoch auf 155 Cal.

2. Grünes Schotengemüse in gleicher Weise hergestellt.

Gewicht = 200 g, Stickstoffgehalt = 7 g, Brennwert = 120 Cal.

Bei einem Zusatz von 10 g frischer Butter ist der N-Gehalt nahezu der gleiche, der Brennwert = 200 Cal.

3. Spinatgemüse (gleiche Zubereitung).
Gewicht = 200 g, N-Gehalt = 4,6 g, Brennwert = 70 Cal.
Eine Zutat von 10 g Butter erhöht den Brennwert auf 150 Cal.

4. Kartoffelbrei (gleiche Zubereitung).
Gewicht = 200 g, N-Gehalt = 1,5 g, Brennwert = 110 Cal.
Mit einem Zusatz von 10 g Butter steigt der Brennwert auf 190 Cal.

5. Milchreis (hergestellt aus 150 g Milch, 15 g Reis, Wasser und Salz).
Gewicht = 200 g, N-Gehalt = 5,3 g, Brennwert = 165 Cal.
Bei einem Zusatz von 10 g Zucker und 10 g Butter, wie er im Haushalt üblich ist, steigt der Brennwert auf 285 Cal.

6. Mondaminmilchbrei (zubereitet aus 10 g Mondamin, 200 g Milch und etwas Salz).
Gewicht = 200 g, Gesamt-N-Gehalt = 6 g, Brennwert = 175 Cal.
Eine Zutat von 10 g Zucker und 10 g Butter bringt den Brennwert des Breies auf 295 Cal.

7. 1 Eßlöffel Marmelade (etwa 20 g) stellt eine Energiemenge von 38 Cal. dar.

8. Semmeln.
Die von meinen Versuchskindern mit einer Mahlzeit aufgenommenen Mengen schwanken zwischen 30 und 50 g. Von dem hier verwandten Präparat besitzen im Durchschnitt

30 g einen Eiweißgehalt von 2,1 g und einen Brennwert von 83 Cal.,
40 g „ „ „ 2,75 g „ einen Brennwert von 111 Cal.,
50 g „ „ „ 3,4 g „ einen Brennwert von 139 Cal.

Die Gemüse und ebenso die Milchmehlbreie haben bei gleichem Gewicht einen doch sehr verschiedenen Brennwert und Eiweißgehalt.

200 g	N-Gehalt	Brennwert
1. Spinatgemüse	4,6 g	150 Cal.
2. Mohrrübengemüse	1,3 g	155 „
3. Kartoffelbrei	1,5 g	190 „
4. grünes Schotengemüse	7,0 g	200 „
5. Milchreis	5,3 g	285 „
6. Mondaminmilchbrei	6,0 g	295 „

Die letzten beiden Breie sind mit einem Zusatz von je 10 g Zucker und Butter berechnet.

Das Mohrrübengemüse und der Kartoffelbrei stehen mit Bezug auf den N-Gehalt an tiefster Stelle, während das grüne Schotengemüse 5—6 mal soviel Eiweiß enthält und mit diesem hohen Werte an der Spitze steht. Der geringe Eiweißgehalt des Kartoffelbreis wird durch den hohen Stärkegehalt mit Bezug auf den Brennwert reichlich ausgeglichen, so daß dieser mit etwa 190 Cal. den Brennwert des Mohrrüben- und des Spinatgemüses erheblich übertrifft.

Diese Werte sind, wie schon auseinandergesetzt, nur annähernd richtige. Sie dürften aber doch bei der Feststellung von Diätformen im allgemeinen genau genug sein, um mit denselben rechnen zu können.

Die Versuchsmethoden.

Ich habe mich darauf beschränkt, Stickstoff- und Energiewert in Nahrung, Kot und Urin zu bestimmen, weil einmal die Feststellung der Nahrungsaufnahme und der Abgabe in Urin und Kot nach diesen beiden Richtungen hin das Hauptinteresse besitzt, dann aber die Bewältigung des großen Materiales mir weitere Bestimmungen, z. B. die direkte Fettbestimmung unmöglich machte. Dazu kommt, daß sich tatsächlich aus meinen Protokollen die Fettaufnahme annähernd genau berechnen läßt, da der Fettgehalt der beiden Milchen, sowie des Eidotters zur Kontrolle der direkten Energiebestimmung festgestellt wurde. Ich habe dann noch für einzelne Kinder die Kohlehydrate in der Nahrung indirekt als Restsubstanz berechnet, wobei ich mir bewußt bin, daß diese Berechnung nur annähernd genau ist, da mir die direkte Bestimmung der Rohfaser sowie der Salze fehlt.

Der Stickstoff wurde stets nach Kjeldahl, bei Kot und Nahrung unter Beigabe von metallischem Quecksilber als Kontakt-

substanz nach Wilfahrt-Argutinsky, bestimmt. Die Verbrennungswärme der Nahrungsmittel, des Kotes und des Urins wurde direkt mit der Berthelot'schen Bombe bestimmt. Die ausgezeichneten Einrichtungen in dem tierphysiologischen Institute der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin, welche mir Geheimrat Professor Zuntz in sehr liebenswürdiger Weise zur Verfügung stellte (wofür ich ihm auch hier aufrichtig danke), geben den von mir gefundenen Werten die größtmögliche Gewähr für ihre Richtigkeit.

Gewöhnlich drei, in seltenen Fällen zwei gut übereinstimmende Verbrennungen gaben die Grundlage für die Berechnung der Energiewerte.

Die trocknen Nahrungsmittel (Semmel, Gelbei, Reis), die vier Gemüsearten, das wasser- und fettfreie Fleisch der Konserven und der Kot wurden in lufttrocknem Zustande zu Pastillen gepreßt und so verbrannt. Die Milch wurde im Platinbecher bei 60—70° C getrocknet und dann verbrannt. In der frischen Butter wurde der N-Gehalt direkt bestimmt, während der Energiewert, wie in einer früheren Veröffentlichung von Cronheim und mir, nach Rubner mit 8,085 Cal. pro 1 g Butter (87,73% Trockensubstanz) angenommen und so in Rechnung gesetzt wurde. Ich war um so mehr berechtigt, diesen Wert als guten Durchschnittswert zu betrachten, als eigene zahlreiche Bestimmungen von Caspari, welche er mir freundlicherweise mitteilte, sehr ähnliche Werte ergeben hatten. Der zur Benutzung gekommene Kochzucker wurde mit 3,96 Cal. pro Gramm in Rechnung gesetzt.

Im Mondamin wurden mehrere Wasserbestimmungen gemacht. Der Durchschnittsgehalt betrug 13,35 H_2O. Unter Berücksichtigung dieses Wertes unter der Annahme eines Brennwertes von 4,1 Cal. für das absolut trockne Mondamin wurde das den Kindern gereichte lufttrockne Präparat mit einem Energiewert von 3,553 Cal. pro Gramm bewertet.

Die Bestimmungen im Reis, Spinat, in den Kartoffeln und Schoten konnten direkt in den lufttrocknen, fein pulverisierten Präparaten vorgenommen werden. Nur die Mohrrüben bedurften einer scharfen Nachtrocknung, da das den Kindern gereichte Präparat zu zähe war, um sich mahlen zu lassen. In diesen getrockneten Mohrrüben wurden die Bestimmungen ausgeführt und die gefundenen Werte dann unter Berücksichtigung des Wasser-

verlustes (27,12%) für das den Kindern tatsächlich gereichte Präparat umgerechnet. Bei der Feststellung des Nährwertes des in Butter gebratenen Konservenfleisches wurde zuerst der Fettgehalt pro Büchse festgestellt und dann in dem fettfreien, trocknen und fein vermahlenen Fleische der Stickstoffgehalt und der Energiewert festgestellt. Das Fett, welches ja reines, wasserfreies Fett, im wesentlichen Kuhbutter darstellte, wurde mit 9,3 Cal. pro Gramm in Rechnung gesetzt. Die gut übereinstimmenden Werte bei Verarbeitung von drei Büchsen geben Zeugnis für die exakte Herstellung der Konserven seitens der Fabrik und die sichere Gewähr, daß der von mir benützte Wert für den Inhalt aller Büchsen der Wahrheit sehr nahe kommt.

In der Marmelade wurde der Stickstoffgehalt direkt bestimmt. Der Energiewert wurde nach vielen vergeblichen Versuchen meinerseits, denselben direkt zu bestimmen, mit 1,877 Cal. pro Gramm angenommen. Ich verdanke diese Zahl Wilhelm Caspari, welcher dieselbe bei einer Marmelade gleicher Konsistenz ermittelte und mir freundschaftlichst mitteilte.

Der Urin wurde nach Kellner (eine im Zuntz'schen Laboratorium als bewährt befundene Methode) auf Cellulosepflöckchen mit bekanntem Verbrennungswert und bei Zimmerwärme im Vakuum eingedunstet. Durch Befeuchten des den Urin enthaltenden Porzellanschälchen mit destilliertem Wasser und durch sorgfältiges Auswischen mit dem Pflöckchen war es leicht, die den Wandungen anhaftenden letzten Reste des Urins quantitativ auf die Pflöckchen zu übertragen. Das Eindunsten des Urins wurde in einem mit der Pflüger'schen Blutgaspumpe verbundenen Exsikkator bei ca. 5—10 mm Quecksilberdruck vorgenommen. Es gelang so, Urinmengen von 20—30 ccm in der kühlen Jahreszeit ohne wesentliche Zersetzung einzudampfen, was daraus hervorging, daß die im Exsikkator befindliche Schale mit stickstofffreier Schwefelsäure nur Spuren von Stickstoffverbindungen aufgenommen hatte. Diese wurden bei der Berechnung berücksichtigt und zwar durch Umrechnung des verloren gegangenen Stickstoffs in Harnstoff und Einsetzen der Verbrennungswärme desselben (2,5419 Cal. pro 1 g) als Plus zu der direkt gefundenen Verbrennungswärme. Bei der Berechnung der calorimetrischen Bestimmung wurde die Verbrennungswärme des zur Zündung dienenden Eisendrahtes sowie die dabei entstehende Salpeter-

säure in Abrechnung gebracht. Letztere wurde allerdings nur durch die Bestimmung der Säuremenge im Spülwasser der Bombe festgestellt, wobei die eventuell gebildete Schwefelsäure sowie Phosphorsäure auch als Salpetersäure gerechnet wird. Die wiederholt im Tierphysiologischen Institut vorgenommene direkte Bestimmung dieser Salpetersäure nach Jodelbaur hat ergeben, daß dieser kleine Fehler vernachlässigt werden darf.

Versuchsergebnisse.

Dieses Kapitel enthält die Stoffwechselbilanz sämtlicher Kinder. Es ist angegeben, was die Kinder täglich an Nahrung zu sich genommen haben, der Gehalt dieser an N und ihr Brennwert. Beim Urin ist die tägliche Menge festgestellt, der täglich ausgeschiedene Gesamt-N und der Brennwert des Gesamturins. Die Angaben über den Kot beziehen sich auf das Gewicht des frischen und getrockneten Gesamtkotes, den N-Gehalt und den Brennwert des letzteren.

Bei den 6 Kindern der I. Versuchsreihe habe ich bei der Nahrung auch die Werte für den Vorversuch mitgeteilt, bei den übrigen Versuchsreihen habe ich es der Raumersparnis wegen unterlassen. Auf Grund der absoluten Werte ist der N-Stoffwechsel und die Energiebilanz absolut und prozentual berechnet. Am Schlusse jedes Versuches sind die Gewichte der Kinder und die Gewichtsveränderung während der Versuche angegeben.

Es ist natürlich, daß bei einer so großen Reihe von Einzelversuchen gewisse Verluste bei der Nahrungsaufnahme durch Erbrechen der Kinder oder Verschütten eines Teils der Mahlzeiten sich ereigneten. Ebenso sind hin und wieder Urinverluste und, wenn auch selten, Verluste bei der Aufsammlung des Kotes vorgekommen. Dieselben wurden genau registriert, wenn möglich gewogen resp. gemessen, sonst abgeschätzt, jedenfalls aber stets gebührend berücksichtigt und in Anrechnung gebracht. Im allgemeinen sind derartige kleine Unglücksfälle bei der ständigen und genauen Beobachtung der Kinder nur selten und in geringem Umfange vorgekommen. Das Gesamtresultat konnten sie in keiner Weise beeinflussen.

I. Versuchsreihe, 6 Kinder.

Vorversuch vom 26. Oktober bis 1. November 1903 (7 Tage).

Eigentlicher Versuch vom 2.—7. November 1903 (6 Tage).

Kind Nr. 1, Götschkes, ist ein dicker, schwerfälliger Knabe mit phlegmatischem Temperament, gutem Appetit und gesundem Schlaf. Er ist zur Versuchszeit 3 Jahre 1 Monat alt, das Durchschnittsgewicht während des Versuches beträgt 13,939 kg (13,6 kg)[1].

---

[1]) Das dem Alter des Kindes entsprechende Normalgewicht nach Heubner (Lehrbuch) ist jedesmal in Klammern beigefügt.

Das Kind erhielt während des 7 tägigen Vorversuches folgende Nahrung:

1. Tag am 26. 10. 03.		2. Tag am 27. 10. 03.	
1. Zucker	7,6 g	1. Zucker	26,1 g
2. Semmeln	125 „	2. Semmeln	122 „
3. Marmelade	20 „	3. Marmelade	40 „
4. Schabefleisch	40 „	4. Schabefleisch	25 „
5. Butter[1])	41,9 „	5. Butter	36,4 „
6. Kartoffeln	16 „	6. Kartoffeln	12 „
7. Mohrrüben	16 „	7. Spinat	6 „
8. Gelbei	8 „	8. Mondamin	15 „
9. Milch	702,7 „	9. Milch	814,1 „

3. Tag am 28. 10. 03.		4. Tag am 29. 10. 03.	
1. Zucker	9,6 g	1. Zucker	14,7 g
2. Semmeln	110 „	2. Semmel	202 „
3. Marmelade	20 „	3. Marmelade	20 „
4. Schabefleisch	25 „	4. Schabefleisch	25 „
5. Butter	33 „	5. Butter	31,5 „
6. Kartoffeln	12 „	6. Kartoffeln	12 „
7. Schoten	12 „	7. Mohrrüben	12 „
8. Reis	25 „	8. Gelbei	8 „
9. Milch	692,3 „	9. Milch	714,5 „

5. Tag am 30. 10. 03.		6. Tag am 31. 10. 03.	
1. Zucker	14,7 g	1. Zucker	15,7 g
2. Semmel	178,0 „	2. Semmel	181 „
3. Marmelade	20 „	3. Marmelade	20 „
4. Schabefleisch	25 „	4. Schabefleisch	25 „
5. Butter	35,5 „	5. Butter	60 „
6. Kartoffeln	12 „	6. Kartoffeln	12 „
7. Spinat	8 „	7. Schoten	12 „
8. Gelbei	8 „	8. Gelbei	8 „
9. Mondamin	20 „	9. Reis	50 „
10. Milch	809,2 „	10. Milch	782,7 „

7. Tag am 1. 11. 03.

1. Zucker	15,7 g	2. Semmel	139 g
3. Marmelade	20 „	4. Schabefleisch	25 „
5. Butter	38,3 „	6. Kartoffeln	12 „
7. Mohrrüben	12 „	8. Heidelbeeren (zur Abgrenzung)	20 „
9. Milch	519,2 „		

---

[1]) Die unter Rubrik 5. angeführte Butter ist für alle Versuche frische Butter.

Während des eigentlichen 6tägigen Versuches vom 2.—7. 11. 03 war die Nahrungsaufnahme die folgende:

1. Tag am 2. 11. 03.

1.	Zucker	13,28	g
2.	Semmel	155,6	„
3.	Marmelade	20	„
4.	Fleischkonserve darin		
	a) Fleisch	25	„
	b) Butter	5	„
5.	Butter	21,434	„
6.	Kartoffeln	12	„
7.	Spinat	6	„
8.	Mondamin	20	„
9.	Gelbei	8	„
10.	Milch	724	„

2. Tag am 3. 11. 03.

1.	Zucker	13,93	g
2.	Semmel	142,7	„
3.	Marmelade	20	„
4.	Fleischkonserve darin		
	a) Fleisch	25	„
	b) Butter	5	„
5.	Butter	19,754	„
6.	Kartoffeln	12	„
7.	Reis	30	„
8.	Schoten	12	„
9.	Gelbei	8	„
10.	Milch	978	„

3. Tag am 4. 11. 03.

1.	Zucker	99,92	g
2.	Semmel	170,5	„
3.	Marmelade	20	„
4.	Fleischkonserve darin		
	a) Fleisch	25	„
	b) Butter	5	„
5.	Butter	23,793	„
6.	Reis	35	„
7.	Gelbei	8	„
8.	Milch	968,2	„

4. Tag am 5. 11. 03.

1.	Zucker	—	
2.	Semmel	125,3	g
3.	Marmelade	20	„
4.	Fleischkonserve darin		
	a) Fleisch	25	„
	b) Butter	5	„
5.	Butter	18,371	„
6.	Kartoffeln	12	„
7.	Spinat	6	„
8.	Milch	425,6	„

5. Tag am 6. 11. 03.

1.	Zucker	11,25	g
2.	Semmel	117,6	„
3.	Marmelade	20	„
4.	Fleischkonserve darin		
	a) Fleisch	25	„
	b) Butter	5	„
5.	Butter	17,631	„
6.	Kartoffeln	10	„
7.	Schoten	10	„
8.	Mondamin	20	„
9.	Gelbei	8	„
10.	Milch	778,5	„

6. Tag am 7. 11. 03.

1.	Zucker	—	
2.	Semmel	149,0	g
3.	Marmelade	20	„
4.	Fleischkonserve darin		
	a) Fleisch	25	„
	b) Butter	5	„
5.	Butter	30,584	„
6.	Reis	40	„
7.	Gelbei	5	„
8.	Milch	994,3	„

Nach den in dem Abschnitte „Nährwert der einzelnen Nahrungsmittel“ gegebenen Werten für N und Calorien ergibt sich als Summe der Aufnahme während des ganzen Versuches:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker . . .	48,38	—	—	3,96	191,58
2. Semmel . . .	860,7	1,117	9,614	2,767	2381,56
3. Marmelade .	120	0,066	0,079	1,877	2225,24
4. Konserve, Fleisch wasser- und fettfrei .	35,1584	14,081	4,951	5,051	177,59
reines Fett .	28,425	—	—	9,3	264,35
5. Butter . . .	131,567	0,138	0,182	8,085	1063,72
6. Reis	105	0,87	0,914	3,963	416,12
7. Kartoffeln . .	46	0,784	0,361	3,655	168,13
8. Spinat. . . .	12	0,708	0,445	3,543	42,52
9. Schoten . . .	22	3,821	0,841	4,059	89,30
10. Mondamin . .	40	—	—	3,553	142,12
11. Gelbei . . .	37	5,092	1,884	7,525	278,43
12. Milch Nr. 1 in ccm . . .	4768,9	0,48	22,891	0,726	3462,22
Summa . . .			42,162 g		8902,88 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 492,6 g, das des lufttrocknen 101,1 g mit 6,701% N und 5,294 Cal. pro 1 g.

Danach berechnen sich die absoluten Werte des Umsatzes wie folgt:

	N in g	Calorien
Einnahme	42,162	8902,88
Ausgabe (Kot)	6,775	535,22
Resorbiert	35,387	8367,66
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	83,93	93,99

Die Zusammensetzung des Urins:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins
Vom 2.—3. 11. 03	292	4,440	
„ 3.—4. 11. 03	449	5,650	
„ 4.—5. 11. 03	399	5,420	
„ 5.—6. 11. 03	385	5,115	
„ 6.—7. 11. 03	423	5,925	
„ 7.—8. 11. 03	400,5	5,475	
Summa	2348,5	32,025	309,44 Cal.

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

3,4 g N angesetzt und 8059 Cal. verbrannt resp. angesetzt
in Prozenten des Resorbierten

9,6% N und 96% Cal.
in Prozent des Eingeführten 8,1% N und 91% Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 91% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Tagen sind:

20. Oktober	1903	13469,0 g	
24. „	„	13974,5 „	
26. „	„	13507,0 „	
28. „	„	13719,5 „	
30. „	„	14033,2 „	
1. November	„	14128,5 „	
2. „	„	13794,5 „	Versuchszeit
3. „	„	13847,8 „	Versuchszeit
4. „	„	14008,7 „	Versuchszeit
5. „	„	14033,0 „	Versuchszeit
6. „	„	13758,1 „	Versuchszeit
7. „	„	13925,7 „	Versuchszeit
8. „	„	14084,2 „	Versuchszeit
11. „	„	13952,0 „	
13. „	„	14206,7 „	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit beträgt + 289,7 g, das mittlere Gewicht 13939,4 g.

Kind Nr. 2, Rahr, ist ein zarter, etwas blasser Knabe mit ruhigem Temperament und Schlaf. Der Appetit war mäßig zu nennen. Er ist zur Versuchszeit 5 Jahre 11 Monate alt. Das Durchschnittsgewicht während des Versuches beträgt 14,740 kg (19,3).

Während des 7 tägigen Vorversuches erhielt das Kind folgende Nahrung:

1. Tag am 26. 10. 03.

1. Zucker	—
2. Semmel	179,0 g
3. Marmelade	20 „
4. Schabefleisch	40 „
5. Butter	47,5 „
6. Kartoffeln	16 „
7. Mohrrüben	16 „
8. Gelbei	8,0 „
9. Milch	672,9 „

2. Tag am 27. 10. 03.

1. Zucker	3,8 g
2. Semmel	112,0 „
3. Marmelade	40 „
4. Schabefleisch	40 „
5. Butter	36,5 „
6. Kartoffeln	16 „
7. Spinat	8,0 „
8. Mondamin	15 „
9. Milch	810,1 „

3. Tag am 28. 10. 03.

1. Zucker	10,2 g
2. Semmel	147 „
3. Marmelade	20 „
4. Schabefleisch	40 „
5. Butter	39,8 „

4. Tag am 29. 10. 03.

1. Zucker	7,7 g
2. Semmel	222 „
3. Marmelade	20 „
4. Schabefleisch	40 „
5. Butter	39,3 „

6.	Kartoffeln	16 g
7.	Schoten	16 „
8.	Reis	40 „
9.	Milch	10631, „

6.	Kartoffeln	16 g
7.	Mohrrüben	16 „
8.	Gelbei	8 „
9.	Milch	557,8 „

5. Tag am 30. 10. 03.

1.	Zucker	7,7 g
2.	Semmel	170 „
3.	Marmelade	20 „
4.	Schabefleisch	50 „
5.	Butter	54,5 „
6.	Kartoffeln	16 „
7.	Spinat	8 „
8.	Mondamin	20,0 „
9.	Gelbei	8 „
10.	Milch	900,0 „

6. Tag am 31. 10. 03.

1.	Zucker	11,4 g
2.	Semmel	180 „
3.	Marmelade	20 „
4.	Schabefleisch	50 „
5.	Butter	45 „
6.	Kartoffeln	16 „
7.	Schoten	16 „
8.	Reis	50 „
9.	Gelbei	8 „
10.	Milch	1029,9 „

7. Tag am 1. 11. 03.

1.	Zucker	11,5 g
2.	Semmel	144 g
3.	Marmelade	20 „
4.	Schabefleisch	50 „
5.	Butter	38,5 „
6.	Kartoffeln	16 „
7.	Mohrrüben	16 „
8.	Milch	472,8 „
9.	Heidelbeeren (zur Abgrenzung)	25 g

Während des Hauptversuches vom 2.—7. 11. 03 war die Nahrungsaufnahme die folgende:

1. Tag am 2. 11. 03.

1.	Zucker	8,67 g
2.	Semmel	160,7 „
3.	Marmelade	20 „
4.	Butter	22,962 „
5.	Kartoffeln	16 „
6.	Spinat	8 „
7.	Mondamin	20 „
8.	Gelbei	8 „
9.	Milch	863,5 „

2. Tag am 3. 11. 03.

1.	Zucker	10,63 g
2.	Semmel	152,8 „
3.	Marmelade	20 „
4.	Butter	22,711 „
5.	Kartoffeln	16 „
6.	Schoten	16 „
7.	Reis	30 „
8.	Gelbei	8 „
9.	Milch	892,1 „

3. Tag am 4. 11. 03.

1.	Zucker	—
2.	Semmel	217,2 g
3.	Marmelade	20 „
4.	Butter	32,383 „
5.	Kartoffeln	16 „
6.	Mohrrüben	16 „
7.	Gelbei	8 „
8.	Milch	945,5 „

4. Tag am 5. 11. 03.

1.	Zucker	—
2.	Semmel	203,3 g
3.	Marmelade	20 „
4.	Butter	21,749 „
5.	Kartoffeln	16 „
6.	Spinat	8 „
7.	Milch	509,7 „

5. Tag am 6. 11. 03.		
1. Zucker	13,85	g
2. Semmel	142,1	„
3. Marmelade	20	„
4. Butter	20,525	„
5. Kartoffeln	12	„
6. Schoten	12	„
7. Mondamin	20	„
8. Gelbei	8	„

6. Tag am 7. 11. 03.		
1. Zucker	—	
2. Semmel	154,4	g
3. Marmelade	20	„
4. Butter	28,926	„
5. Kartoffeln	—	
6. Reis	40	„
7. Gelbei	5	„
8. Milch	861	„
9. Milch	710,1	„

Dazu kommt für jeden einzelnen Tag die Konserve hinzu, darin Fleisch 50 g und Butter 10 g.

Die mit diesen Nahrungsmitteln aufgenommene N- und Energiemenge beträgt:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	33,15	—	—	3,96	131,27
2. Semmel	1030,5	1,117	11,511	2,767	2851,39
3. Marmelade	120	0,066	0,079	1,877	225,24
4. Konserve, Fleisch wasser- und fettfrei	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett	56,85	—	—	9,3	528,71
5. Butter	149,256	0,138	0,206	8,085	1206,73
6. Reis	70	0,87	0,609	3,963	277.41
7. Kartoffeln	76	0,784	0,596	3,655	277,78
8. Spinat	16	3,708	0,593	3,543	56,69
9. Schoten	28	3,821	1,07	4,059	113,65
10. Mohrrüben	16	0,816	0,131	2,945	47,12
11. Mondamin	40	—	—	3,553	142,12
12. Gelbei	37	5,092	1,884	7,525	278,43
13. Milch Nr. 1 in ccm	4684	0,48	22,483	0,726	3400,58
Summa			49,063 g		9892,29 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 626,8 g, das des lufttrocknen 119,09 mit 6,96% N und 5,026 Cal. pro 1 g. Danach ergeben sich als absolute Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	49,063	9892,29
Ausgabe (Kot)	8,289	598,55
Resorbiert	40,774	9293,74
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	83,1	94

Die Zusammensetzung des Urins:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins
Vom 2.—3. 11. 03	417	6,755	
„ 3.—4. 11. 03	565	7,486	
„ 4.—5. 11. 03	469	6,083	
„ 5.—6. 11. 03	698	6,848	
„ 6.—7. 11. 03	444	6,683	
„ 7.—8. 11. 03	458,5	6,825	
Summa	3051,5	40,680	406,59 Cal.

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

0,1 g N angesetzt und 8886 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
in Prozenten des Resorbierten,
0,2% N und 96% Cal.
in Prozenten des Eingeführten 0,2% N und 90 % Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 90% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Tagen sind:

19.	Oktober	1903	14112,8 g	
23.	„	„	14169,5 „	
26.	„	„	13978,3 „	
28.	„	„	14362,4 „	
30.	„	„	14512,3 „	
1.	November	„	14628,2 „	
2.	„	„	14384,3 „	Versuchszeit,
3.	„	„	14411,6 „	
4.	„	„	14598,5 „	
5.	„	„	14833,2 „	
6.	„	„	14422,5 „	
7.	„	„	14480,8 „	
8.	„	„	15094,7 „	
11.	„	„	14595,2 „	
13.	„	„	14636,5 „	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit beträgt + 710,4, das mittlere Gewicht 14739,5 g.

Die Gewichtszunahme ist bei diesem Kinde eine ganz außergewöhnliche, und es ist durchaus unmöglich, daß dieselbe eine Gewebevermehrung bedeutet. Betrachten wir die Gewichte an den einzelnen Tagen genauer, so zeigt es sich, daß das Gewicht am Beginn des Versuches das niedrigste, das am Ende das höchste der ganzen Gewichtsreihe ausmacht, und daß beide Werte aus der Reihe der übrigen vollkommen herausfallen. Ich komme den tatsächlichen Gewichtsveränderungen dieses Kindes sicher näher, wenn ich am Beginn und Ende des Versuches je zwei Gewichtsbestimmungen

(und zwar je eine vorhergehende und nachfolgende) mitberücksichtige, und die Differenz aus den beiden Mitteln dieser drei Wägungen als Gewichtsveränderung während des Versuches auffasse und daraus das Mittelgewicht berechne. Die Rechnung gestaltet sich dann wie folgt:

Datum	Gewicht	Datum	Gewicht
Am 1. 11.	14628,2	Am 7. 11.	14480,8
„ 2. 11.	14384,3	„ 8. 11.	15094,7
„ 3. 11.	14411,6	„ 11. 11.	14595,2
Im Mittel:	14474,7 g		14723,6 g

Danach beträgt das Mittelgewicht 14599,2 g, die Gewichtsveränderung + 248,9 g.

Ich habe für alle weiteren Berechnungen die so berechneten Werte benützt in der sicheren Überzeugung, mit ihnen der Wahrheit näher zu kommen.

Kind Nr. 3, Groß, ist ein dicker, gut genährter Knabe mit lebhaftem Temperament, der Appetit und Schlaf sind gut. Das Kind ist zur Versuchszeit 5 Jahre 11 Monate alt. Das Durchschnittsgewicht während des Versuches beträgt 15,569 kg (19,3).

Während des 7tägigen Vorversuches erhielt das Kind folgende Nahrung:

1. Tag am 27. 10. 03.		2. Tag am 28. 10. 03.	
1. Zucker	5,6 g	1. Zucker	15,2 g
2. Semmel	129 „	2. Semmel	152 „
3. Marmelade	40 „	3. Marmelade	20 „
4. Schabefleisch	50 „	4. Schabefleisch	50 „
5. Butter	46 „	5. Butter	35,3 „
6. Kartoffeln	24 „	6. Kartoffeln	24 „
7. Spinat	12 „	7. Schoten	24 „
8. Mondamin	15 „	8. Reis	50 „
9. Milch	896 „	9. Milch	1035,8 „

3. Tag am 29. 10. 03.		4. Tag am 30. 10. 03.	
1. Zucker	8,3 g	1. Zucker	8,3 g
2. Semmel	214 „	2. Semmel	150 „
3. Marmelade	20 „	3. Marmelade	20 „
4. Schabefleisch	50 „	4. Schabefleisch	50 „
5. Butter	42,1 „	5. Butter	45,3 „
6. Kartoffeln	24 „	6. Kartoffeln	24 „
7. Mohrrüben	24 „	7. Spinat	12 „
8. Gelbei	8 „	8. Mondamin	20 „
9. Milch	659,9 „	9. Gelbei	8 „
		10. Milch	940,9 „

5. Tag am 31. 10. 03.		6. Tag am 1. 11. 03.	
1. Zucker	11,6 g	1. Zucker	11,6 g
2. Semmel	174 „	2. Semmel	158 „

3. Marmelade	20 g		3. Marmelade	20 g
4. Schabefleisch	50 „		4. Schabefleisch	50 „
5. Butter	53 „		5. Butter	37,7 „
6. Kartoffeln	24 „		6. Kartoffeln	24 „
7. Schoten	24 „		7. Mohrrüben	24 „
8. Reis	50 „		8. Milch	417,8 „
9. Gelbei	8 „		9. Heidelbeeren	30 „
10. Milch	1012,7 „		(zur Abgrenzung)	

Während des Hauptversuches vom 2.—7. 11. 03 war die Nahrungsaufnahme wie folgt:

1. Tag am 2. 11. 03.			2. Tag am 3. 11. 03.	
1. Zucker	7,76 g		1. Zucker	12,4 g
2. Semmel	155,2 „		2. Semmel	184,9 „
3. Marmelade	20 „		3. Marmelade	20 „
4. Butter	20,082 „		4. Butter	22,76 „
5. Kartoffeln	24 „		5. Kartoffeln	24 „
6. Spinat	12 „		6. Schoten	24 „
7. Mondamin	20 „		7. Reis	40 „
8. Gelbei	8 „		8. Gelbei	8 „
9. Milch	713,2 „		9. Milch	1044,0 „

3. Tag am 4. 11. 03.			4. Tag am 5. 11. 03.	
1. Zucker	—		1. Zucker	—
2. Semmel	209,1 g		2. Semmel	168,6 g
3. Marmelade	20 „		3. Marmelade	20 „
4. Butter	34,382 „		4. Butter	21,052 „
5. Kartoffeln	24 „		5. Kartoffeln	24 „
6. Mohrrüben	24 „		6. Spinat	12 „
7. Gelbei	8 „		7. Milch	430,8 „
8. Milch	1029,0 „			

5. Tag am 6. 11. 03.			6. Tag am 7. 11. 03.	
1. Zucker	9,61 g		1. Zucker	—
2. Semmel	127,2 „		2. Semmel	164,5 g
3. Marmelade	20 „		3. Marmelade	20 „
4. Butter	18,507 „		4. Butter	31,284 „
5. Kartoffeln	20 „		5. Reis	50 „
6. Schoten	20 „		6. Gelbei	5 „
7. Mondamin	20 „		7. Milch	1005,2 „
8. Gelbei	8 „			
9. Milch	564,5 „			

Dazu kommt für jeden einzelnen Tag die Konserve hinzu, darin Fleisch 50 und Butter 10 g.

Die mit dieser Nahrung aufgenommene N- und Energiemenge beträgt:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	29,77	—	—	3,96	117,86
2. Semmel	1009,5	1,117	11,276	2,767	2793,29
3. Marmelade . .	120	0,066	0,079	1,877	225,24
4. Konserve, Fleisch (wasser- und fettfrei) . .	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett . .	56,85	—	—	9,3	528,71
5. Butter	148,067	0,138	0,204	8,085	1197,12
6. Reis	90	0,87	0,783	3,963	356,67
7. Kartoffeln . . .	116	0,784	0,909	3,655	423,98
8. Spinat.	24	3,708	0,89	3,543	85,03
9. Schoten	44	3,821	1,681	4,059	178,60
10. Mohrrüben . .	24	0,816	0,196	2,945	70,68
11. Mondamin . .	40	—	—	3,553	142,12
12. Gelbei	37	5,092	1,884	7,525	278,43
13. Milch Nr. 1 in ccm . . .	4688,6	0,48	22,505	0,726	3403,92
Summa			50,308 g		10156,82 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 558,4 g, das des lufttrocknen 109,9 g mit 6,72% N und 5,084 Cal. pro 1 g. Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	50,3	10157
Ausgabe (Kot)	6,8	513
Resorbiert	43,5	9644
Resorbiert in Prozent der Einnahme	86,5	95

Die Zusammensetzung des Urins:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins
Vom 2.—3. 11. 03	425	5,905	
„ 3.—4. 11. 03	525	7,245	
„ 4.—5. 11. 03	599	6,878	
„ 5.—6. 11. 03	507	6,368	
„ 6.—7. 11. 03	421	6,698	
„ 7.—8. 11. 03	471,5	7,650	
Summa	2948,5	40,744	416,44 Cal.

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

2,8 g N angesetzt und 9228 Cal. verbrannt resp. angesetzt
in Prozenten des Resorbierten

6,4% N und 96% Cal.
in Prozenten des Eingeführten 5,6% N und 91% Cal.

Von dem Brennwert der Nahrung sind mithin dem Körper 90% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Tagen sind:

19. Oktober	1903	15161,4 g	
24. „	„	15197,3 „	
26. „	„	15268,8 „	
28. „	„	15346,3 „	
30. „	„	15652,9 „	
1. November	„	15919,6 „	
2. „	„	15417,3 „	Versuchszeit
3. „	„	15616,4 „	Versuchszeit
4. „	„	15731,8 „	Versuchszeit
5. „	„	15852,9 „	Versuchszeit
6. „	„	15567,2 „	Versuchszeit
7. „	„	15482,1 „	Versuchszeit
8. „	„	15721,2 „	Versuchszeit
11. „	„	15667,5 „	
13. „	„	15617,0 „	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit beträgt + 303,9 g, das mittlere Gewicht 15569,3 g.

Kind Nr. 4, Lieberknecht, ist ein graziler, dünner, lebhafter Knabe mit geringem Appetit und etwas unruhigem Schlaf. Er ist zur Versuchszeit 5 Jahre 7 Monate alt. Das Durchschnittsgewicht während des Versuches ist 14,131 kg (18,8).

Während des 7 tägigen Vorversuches erhielt das Kind folgende Nahrung:

1. Tag am 26. 10. 03.

1.	Zucker	—
2.	Semmel	162 g
3.	Marmelade	20 „
4.	Schabefleisch	40 „
5.	Butter	51,6 „
6.	Kartoffeln	16 „
7.	Mohrrüben	16 „
8.	Gelbei	8 „
9.	Milch	1026,2 „

2. Tag am 27. 10. 03.

1.	Zucker	6,8 g
2.	Semmel	137 „
3.	Marmelade	40 „
4.	Schabefleisch	40 „
5.	Butter	40,9 „
6.	Kartoffeln	16 „
7.	Spinat	8 „
8.	Mondamin	15 „
9.	Milch	1031,4 „

3. Tag am 28. 10. 03.

1.	Zucker	11,7 g
2.	Semmel	160 „
3.	Marmelade	20 „
4.	Schabefleisch	40 „
5.	Butter	36,5 „

4. Tag am 29. 10. 03.

1.	Zucker	8 g
2.	Semmel	230 „
3.	Marmelade	20 „
4.	Schabefleisch	40 „
5.	Butter	45,3 „

6. Kartoffeln . . . . . 16 g
7. Schoten . . . . . . 16 „
8. Reis . . . . 40 „
9. Milch . . . . 1004,9 „

6. Kartoffeln . . . . . 16 g
7. Mohrrüben . . . . . 16 „
8. Gelbei . . . . 8 „
9. Milch . . . . 949,2 „

5. Tag am 30. 10. 03.

1. Zucker . . . . 8 g
2. Semmel . . . . . . 171 „
3. Marmelade . . . . . 20 „
4. Schabefleisch . . . . 50 „
5. Butter . . . . 47,7 „
6. Kartoffeln . . . . . 16 „
7. Spinat . . . . 8 „
8. Mondamin . . . . . 20 „
9. Gelbei . . . . 8 „
10. Milch . . . . 1000,5 „

6. Tag am 31. 10. 03.

1. Zucker . . . . 15,4 g
2. Semmel . . . . . . 183 „
3. Marmelade . . . . . 20 „
4. Schabefleisch . . . . 50 „
5. Butter . . . . 52 „
6. Kartoffeln . . . . . 16 „
7. Schoten . . . . . . 16 „
8. Reis . . . . 50 „
9. Gelbei . . . . 8 „
10. Milch . . . . 1017,0 „

7. Tag am 1. 11. 03.

1. Zucker . . . . 15,4 g
2. Semmel . . . . . . 155 g
3. Marmelade . . . . . 20 „
4. Schabefleisch . . . . 50 „
5. Butter . . . . 45,6 „
6. Kartoffeln . . . . . 16 „
7. Mohrrüben . . . . . 16 „
8. Milch . . . . 545,4 „
9. Heidelbeeren . . . . 25 „
(zur Abgrenzung)

Während des eigentlichen Versuches vom 2.—11. November 1903 war die Nahrungsaufnahme die folgende:

1. Tag am 2. 11. 03.

1. Zucker . . . . . . 5,93 g
2. Semmel . . . . . 161,3 „
3. Marmelade . . . . 20 „
4. Butter . . . . . . 21,99 „
5. Kartoffeln . . . . 16 „
6. Spinat . . . . . . 8 „
7. Mondamin . . . . 20 „
8. Gelbei . . . . . . 8 „
9. Milch . . . . . . 750,5 „

2. Tag am 3. 11. 03.

1. Zucker . . . . . . 7,35 g
2. Semmel . . . . . 175,4 „
3. Marmelade . . . . 20 „
4. Butter . . . . . . 22,251 „
5. Kartoffeln . . . . . 16 „
6. Schoten . . . . . 16 „
7. Reis . . . . 40 „
8. Gelbei . . . . . . 8 „
9. Milch . . . . . . 1002,3 „

3. Tag am 4. 11. 03.

1. Zucker . . . . . . —
2. Semmel . . . . . 213,1 g
3. Marmelade . . . . 20 „
4. Butter . . . . . . 33,861 „
5. Kartoffeln . . . . 16 „
6. Karotten . . . . . 16 „
7. Gelbei . . . . . . 8 „
8. Milch . . . . . . 902,5 „

4. Tag am 5. 11. 03.

1. Zucker . . . . . . —
2. Semmel . . . . . 91,6 g
3. Marmelade . . . . 20 „
4. Butter . . . . . . 18,951 „
5. Kartoffeln . . . . 16 „
6. Spinat . . . . . . 8 „
7. Milch . . . . . . 293,8 „

5. Tag am 6. 11. 03.		6. Tag am 7. 11. 03.	
1. Zucker	12,72 g	1. Zucker	—
2. Semmel	122,4 „	2. Semmel	103,7 g
3. Marmelade	20 „	3. Marmelade	20 „
4. Butter	18,393 „	4. Butter	24,811 „
5. Kartoffeln	12 „	5. Reis	40 „
6. Schoten	12 „	6. Gelbei	5 „
7. Mondamin	20 „	7. Milch	930,2 „
8. Gelbei	8 „		
9. Milch	803,8 „		

Dazu kommt für jeden einzelnen Tag die Konserve hinzu mit 50 g Fleisch und 10 g Butter.

Die mit dieser Nahrung aufgenommene N- und Energiemenge beträgt:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	26,0	—	—	3,96	102,96
2. Semmel	767,5	1,117	8,573	2,767	2123,67
3. Marmelade . . .	120,0	0,066	0,079	1,877	225,24
4. Konserve, Fleisch (wasser- und fettfrei) . .	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett . . .	56,85	—	—	9,3	528,71
5. Butter	140,257	0,138	0,194	8,085	1133,98
6. Reis	80,0	0,870	0,696	3,963	317,04
7. Kartoffeln . . .	76,0	0,784	0,596	3,655	277,78
8. Spinat	16,0	3,708	0,593	3,543	56,69
9. Schoten	28,0	3,821	1,070	4,059	113,85
10. Mohrrüben . . .	16,0	0,816	0,131	2,945	47,12
11. Mondamin . . .	40,0	—	—	3,553	142,12
12. Gelbei	45,0	5,092	2,291	7,525	338,63
13. Milch Nr. 1 in ccm	4097,5	0,48	19,668	0,726	2974,79
Summa			43,792 g		8737,55 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 372,7 g, das des lufttrocknen 82,03 g mit 5,493% N und 5,16 Cal. pro 1 g. Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	43,8	8738
Ausgabe (Kot)	4,5	423
Resorbiert	39,3	8315
Resorbiert in Prozenten der Einnahme.	89,7	95

Die Zusammensetzung des Urins:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins
Vom 2.—3. 11. 03	477	7,170	
„ 3.—4. 11. 03	570	8,483	
„ 4.—5. 11. 03	475	6,597	
„ 5.—6. 11. 03	379	7,050	
„ 6.—7. 11. 03	558	8,760	
„ 7.—8. 11. 03	285,5	4,222	
Summa	2744,5	42,282	408,55 Cal.

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

— 3,0 g N abgegeben und 7906 Cal. verbrannt resp. angesetzt
in Prozenten des Resorbierten
— 7,6 N und 95 Cal.
in Prozenten des Eingeführten — 6,9 N und 90 Cal.

Von dem Brennwert der Nahrung sind mithin dem Körper 90% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Tagen sind:

19.	Oktober	1903	14248,1 g	
23.	„	„	14284,5 „	
26.	„	„	14088,6 „	
28.	„	„	14412,9 „	
30.	„	„	14562,6 „	
1.	November	„	14706,6 „	
2.	„	„	14484,7 „	Versuchszeit
3.	„	„	14543,4 „	Versuchszeit
4.	„	„	14803,5 „	Versuchszeit
5.	„	„	14459,8 „	Versuchszeit
6.	„	„	14085,3 „	Versuchszeit
7.	„	„	14142,3 „	Versuchszeit
8.	„	„	13777,4 „	Versuchszeit
11.	„	„	13971,7 „	
13.	„	„	14217,2 „	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 2.—7. November beträgt — 707,3 g, das mittlere Gewicht 14131,1 g.

Die Werte dieses Kindes sind sehr außergewöhnliche und fallen aus der Reihe derjenigen der übrigen Kinder ganz heraus. Das Kind hat augenscheinlich am 4. Versuchstage an einer Magenindisposition gelitten, welche sich durch eine stark verminderte Nahrungsaufnahme kundgab. Krankhafte Symptome wurden damals an dem Kinde nicht wahrgenommen. Das Kind nahm an diesem Tage (5. 11. 03) nur 293,8 g Milch auf gegenüber einer täglichen Aufnahme von 780,5 g im Durchschnitt des ganzen und einer solchen von 885,1 g im Durchschnitt der drei ersten Tage, und ebenso verzehrte das Kind auffallend wenig Semmel. Es erscheint mir deshalb richtig, bei diesem Kinde nur die ersten drei Tage des Haupt-

versuches und dafür die 7 Tage des Vorversuches zu berücksichtigen. Ich verfüge dann über eine 10tägige Versuchszeit bei ungestörtem Wohlbefinden des Kindes. Um eine Kritik zu ermöglichen, habe ich auch die Bilanz des ganzen Hauptversuches, wie sie sich ohne Berücksichtigung der auffallend geringen Aufnahme am 4. Tage ergibt, durchgeführt (s. vorhergehende Seiten), ich habe jedoch für alle späteren Besprechungen die neuen Werte benützt, weil ich mit diesen den tatsächlichen Stoffwechselverhältnissen dieses Kindes näher zu kommen glaube. Die Berechnung gestaltet sich wie folgt:

Wie aus dem Protokoll über die Bilanz des Kindes zu ersehen ist, beträgt die Aufnahme während des Vorversuches 60,569 g N und 12943,25 Cal., wobei ich bemerken möchte, daß ich das dem Kinde gereichte sehr magere Schabefleisch mit 3,3% N und 1,132 Cal. pro 1 g bewertet habe. Die von dem Kinde in den drei ersten Tagen des Hauptversuches genommene Nahrung enthielt in Summa: 26,709 g N und 5374,17 Cal. Demnach hat das Kind während der 10tägigen Versuchszeit im ganzen: 87,278 g N und 18317,42 Cal. aufgenommen, oder pro Tag und Kilo 0,60 g N und 126,9 Cal. bei dem von mir berechneten Mittelgewicht von 14432,1 g. Ich habe für die Berechnung des Mittelgewichtes die 3 ersten Wägungen des Vorversuches und die Wägungen am 2., 3. und 4. Tage des Hauptversuches berücksichtigt. Die Daten sind die folgenden:

Datum	Gewicht	Datum	Gewicht
23. 10	14284,5	3. 11.	14543,4
26. 10	14088,6	4. 11.	14803,5
28. 10.	14412,9	5. 11.	14459,8
Im Mittel:	14262,0 g		14602,2 g

Danach berechnet sich das Durchschnittsgewicht auf 14432,1 g, die Gewichtszunahme auf + 340,2 g.

Die Werte für die Aufnahme pro Tag und Kilo auf Grund dieser neuen Berechnung erfahren nur eine geringe Verschiebung gegenüber denjenigen, welche sich ergeben, wenn die analoge Aufstellung mit Hilfe des unverkürzten Hauptversuches ausgeführt wird. Nur die Gewichtsverhältnisse ändern sich vollkommen, indem das Kind jetzt eine Zunahme von 340,2 g aufweist. Für die spätere Tabelle Nr. I habe ich, um Vergleichswerte zu besitzen, die 10tägigen Werte auf 6tägige umgerechnet, und diese auch weiterhin immer benützt.

Kind Nr. 5, Schalich, ist ein ziemlich gut genährter, mäßig ruhiger Knabe mit gutem Appetit und gesundem Schlaf. Er ist zur Versuchszeit 5 Jahre 1 Monat alt. Das Durchschnittsgewicht während des Versuches beträgt 16,99 kg (17,4 kg).

Während des 7tägigen Versuches erhielt das Kind folgende Nahrung:

1. Tag am 26. 10. 03.		2. Tag am 27. 10. 03.	
1. Zucker	—	1. Zucker	3,4 g
2. Semmel	299 g	2. Semmel	193 „
3. Marmelade	20 „	3. Marmelade	40 „
4. Butter	58,4 „	4. Butter	40,5 „
5. Schabefleisch	50 „	5. Schabefleisch	50 „

6. Kartoffeln	24	g
7. Mohrrüben	24	„
8. Gelbei	8	„
9. Milch	1044,2	„

6. Kartoffeln	24	g
7. Spinat	12	„
8. Mondamin	15	„
9. Milch	1053,1	„

3. Tag am 28. 10. 03.

1. Zucker	6,1	g
2. Semmel	204	„
3. Marmelade	20	„
4. Butter	38	„
5. Schabefleisch	50	„
6. Kartoffeln	24	„
7. Schoten	24	„
8. Reis	50	„
9. Milch	1026,0	„

4. Tag am 29. 10. 03.

1. Zucker	23	g
2. Semmel	219	„
3. Marmelade	20	„
4. Schabefleisch	50	„
5. Butter	52,1	„
6. Kartoffeln	24	„
7. Mohrrüben	24	„
8. Gelbei	8	„
9. Milch	964,7	„

5. Tag am 30. 10. 03.

1. Zucker	23	g
2. Semmel	205	„
3. Marmelade	20	„
4. Schabefleisch	50	„
5. Butter	58,9	„
6. Kartoffeln	24	„
7. Spinat	12	„
8. Mondamin	20	„
9. Gelbei	8	„
10. Milch	1004,8	„

6. Tag am 31. 10. 03.

1. Zucker	11,6	g
2. Semmel	187	„
3. Marmelade	20	„
4. Schabefleisch	50	„
5. Butter	41,0	„
6. Kartoffeln	24	„
7. Schoten	24	„
8. Reis	50	„
9. Gelbei	8	„
10. Milch	1016,9	„

7. Tag am 1. 11. 03.

1. Zucker	11,6	g
2. Semmel	140	g
3. Marmelade	20	„
4. Schabefleisch	50	„
5. Butter	42,4	„
6. Kartoffeln	24	„
7. Mohrrüben	24	„
8. Milch	535,4	„
9. Heidelbeeren (zur Abgrenzung)	30	g

Während des Hauptversuches vom 2.—7. 11. 03 war die Nahrungsaufnahme wie folgt:

1. Tag am 2. 11. 03.

1. Zucker	5,6	g
2. Semmel	181,1	„
3. Marmelade	20	„
4. Butter	21,579	„
5. Kartoffeln	24	„
6. Spinat	12	„
7. Mondamin	20	„
8. Gelbei	8	„
9. Milch	908,3	„

2. Tag am 3. 11. 03.

1. Zucker	12,68	g
2. Semmel	194,3	„
3. Marmelade	20	„
4. Butter	22,695	„
5. Kartoffeln	24	„
6. Schoten	24	„
7. Reis	40	„
8. Gelbei	8	„
9. Milch	926,5	„

3. Tag am 4. 11. 03.

1. Zucker	—	
2. Semmel	226,3	g
3. Marmelade	20	„
4. Butter	37,594	„
5. Kartoffeln	24	„
6. Mohrrüben	24	„
7. Gelbei	8	„
8. Milch	851,1	„

4. Tag am 5. 11. 03.

1. Zucker	5,77	g
2. Semmel	173,4	„
3. Marmelade	20	„
4. Butter	12,017	„
5. Kartoffeln	24	„
6. Spinat	12	„
7. Mondamin	20	„
8. Gelbei	8	„
9. Milch	700,5	„

5. Tag am 6. 11. 03.

1. Zucker	11,75	g
2. Semmel	198,3	„
3. Marmelade	20	„
4. Butter	21,443	„
5. Kartoffeln	24	„
6. Schoten	24	„
7. Mondamin	20	„
8. Gelbei	8	„
9. Milch	849,5	„

6. Tag am 7. 11. 03.

1. Zucker	—	
2. Semmel	256,4	g
3. Marmelade	20	„
4. Butter	36,524	„
5. Reis	50	„
6. Gelbei	5	„
7. Milch	1041,7	„

Dazu kommt für jeden einzelnen Versuchstag die Konserve hinzu, darin Fleisch 50 und Butter 10 g.

Die mit diesen Nahrungsmitteln aufgenommene N- und Energiemenge beträgt:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	35,80	—	—	3,96	141,77
2. Semmel	1229,8	1,117	13,737	2,767	3402,86
3. Marmelade	120	0,066	0,079	1,877	225,24
4. Konserve,					
Fleisch (wasser- und fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett	36,85	—	—	9,3	528,71
5. Butter	151,852	0,138	0,210	8,085	1227,72
6. Reis	90	0,87	0,783	3,963	356,67
7. Kartoffeln	120	0,784	0,941	3,655	438,6
8. Spinat	24	3,708	0,890	3,543	85,03
9. Schoten	48	3,821	1,834	4,059	194,83
10. Mohrrüben	24	0,816	0,196	2,945	70,68
11. Mondamin	60	—	—	3,553	213,18
12. Gelbei	45	5,092	2,291	7,525	338,63
13. Milch Nr. 1 in ccm	5169,5	0,48	24,814	0,726	3753,06
Summa			55,676 g		11332,15 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 482,4 g, das des lufttrocknen 144,34 g mit 7,048% N und 5,123 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	55,7	11332
Ausgabe (Kot)	10,2	739
Resorbiert	45,5	10593
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	81,7	93

Die Zusammensetzung des Urins:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins
Vom 2.—3. 11. 03	615	6,473	
„ 3.—4. 11. 03	612	7,455	
„ 4.—5. 11. 03	668	7,058	
„ 5.—6. 11. 03	750	6,877	
„ 6.—7. 11. 03	619	7,103	
„ 7.—8. 11. 03	647,5	7,628	
Summa	3911,5	42,594	442,88 Cal.

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 2,9 g N angesetzt und 10150 Cal. verbrannt resp. angesetzt
in Prozenten des Resorbierten
6,4 N und 96 Cal.
in Prozenten des Eingeführten 5,2 N und 90 Cal.

Von dem Brennwert der Nahrung sind mithin dem Körper 90% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Tagen sind:

Datum		Jahr	Gewicht	
22.	Oktober	1903	16 068,0 g	
26.	„	„	16 555,0 „	
28.	„	„	16 761,0 „	
30.	„	„	16 965,2 „	
1.	November	„	17 062,8 „	
2.	„	„	16 859,2 „	Versuchszeit
3.	„	„	16 909,2 „	Versuchszeit
4.	„	„	17 030,0 „	Versuchszeit
5.	„	„	17 329,8 „	Versuchszeit
6.	„	„	17 070,3 „	Versuchszeit
7.	„	„	17 218,0 „	Versuchszeit
8.	„	„	17 120,6 „	Versuchszeit
11.	„	„	17 072,0 „	
13.	„	„	17 432,3 „	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 2.—7. November betrug + 261,4 g, das mittlere Gewicht 16989,9 g.

Kind Nr. 6, Wenzel, ist ein auffallend großer und dicker Knabe mit gesundem Schlaf. Temperament ist nicht ausgesprochen ruhig oder lebhaft, der Appetit ist nur mäßig zu nennen. Das Durchschnittsgewicht während des Versuches beträgt 17,573 kg (16,3).

Während des 7 tägigen Vorversuches erhielt das Kind folgende Nahrung:

1. Tag am 26. 10. 03.		2. Tag am 27. 10. 03.	
1. Zucker	—	1. Zucker	4,8 g
2. Semmel	230 g	2. Semmel	193 „
3. Marmelade	20 „	3. Marmelade	40 „
4. Schabefleisch	50 „	4. Schabefleisch	50 „
5. Butter	47,7 „	5. Butter	35,1 „
6. Kartoffeln	24 „	6. Kartoffeln	24 „
7. Mohrrüben	24 „	7. Spinat	12 „
8. Gelbei	8 „	8. Mondamin	15 „
9. Milch	1022,8 „	9. Milch	1033,1 „

3. Tag am 28. 10. 03.		4. Tag am 29. 10. 03.	
1. Zucker	10,2 g	1. Zucker	10,3 g
2. Semmel	192 „	2. Semmel	226,0 „
3. Marmelade	20 „	3. Marmelade	20,0 „
4. Schabefleisch	50 „	4. Schabefleisch	50,0 „
5. Butter	47,5 „	5. Butter	47,8 „
6. Kartoffeln	24 „	6. Kartoffeln	24,0 „
7. Schoten	24 „	7. Mohrrüben	24,0 „
8. Reis	50 „	8. Gelbei	8,0 „
9. Milch	1025,7 „	9. Milch	992,3 „

5. Tag am 30. 10. 03.		6. Tag am 31. 10. 03.	
1. Zucker	10,3 g	1. Zucker	13,1 g
2. Semmel	211,0 „	2. Semmel	180,0 „
3. Marmelade	20,0 „	3. Marmelade	20 „
4. Schabefleisch	50,0 „	4. Schabefleisch	50,0 „
5. Butter	41,8 „	5. Butter	56,0 „
6. Kartoffeln	24,0 „	6. Kartoffeln	24,0 „
7. Spinat	12,0 „	7. Schoten	24,0 „
8. Gelbei	8,0 „	8. Gelbei	8,0 „
9. Reis	50,0 „	9. Mondamin	20,0 „
10. Milch	1044,8 „	10. Milch	1029,0 „

7. Tag am 1. 11. 03.

1. Zucker	13,1 g	5. Butter	42,2 g
2. Semmel	146,0 „	6. Kartoffeln	24,0 „
3. Marmelade	20,0 „	7. Mohrrüben	24,0 „
4. Schabefleisch	50,0 „	8. Milch	575,5 „

9. Heidelbeeren . . . . 30,0 g
(zur Abgrenzung)

Während des Hauptversuchs vom 6.—9. 11. 03 war die Nahrungsaufnahme wie folgt: Wegen eines kleinen Unwohlseins des Kindes mußte. der Versuch um 4 Tage verschoben und auf 4 Tage beschränkt werden.

1. Tag am 6. 11. 03.			2. Tag am 7. 11. 03.		
1. Zucker	—		1. Zucker	—	
2. Semmel	128,8	g	2. Semmel	186,0	g
3. Marmelade	20,0	„	3. Marmelade	20,0	„
4. Butter	23,121	„	4. Butter	28,651	„
5. Kartoffeln	12,0	„	5. Reis	40,0	„
6. Schoten	12,0	„	6. Gelbei	5,0	„
7. Milch	420,2	„	7. Milch	1045,3	„

3. Tag am 8. 11. 03.			4. Tag am 9. 11. 03.		
1. Zucker	5,15	g	1. Zucker	—	
2. Semmel	186,0	„	2. Semmel	221,0	g
3. Marmelade	40,0	„	3. Marmelade	20,0	„
4. Butter	19,515	„	4. Butter	31,201	„
5. Spinat	10,0	„	5. Kartoffeln	20,0	„
6. Kartoffeln	20,0	„	6. Mohrrüben	20,0	„
7. Reis	40,0	„	7. Gelbei	8,0	„
8. Milch	703,4	„	8. Milch	695,7	„

Dazu kommt für jeden einzelnen Versuchstag die Konserve hinzu, darin Fleisch 37,5 und Butter 7,5 g[1]).

Die mit diesen Nahrungsmitteln aufgenommene N- und Energiemenge beträgt:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	5,15	—	—	3,96	20,39
2. Semmel	721,8	1,117	8,063	2,767	1997,22
3. Marmelade	100,0	0,066	0,066	1,877	1187,7
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	35,1584	14,081	4,951	5,051	177,59
reines Fett	28,425	—	—	9,3	264,35
5. Butter	102,488	0,138	0,141	8,085	828,62
6. Reis	80,0	0,87	0,696	3,963	317,04
7. Kartoffeln	52	0,784	0,408	3,655	190,06
8. Spinat	10,0	3,708	0,371	3,543	35,43
9. Schoten	12,0	3,821	0,459	4,059	48,71
10. Mohrrüben	20,0	0,816	0,163	2,945	58,90
11. Gelbei	13,0	5,092	0,662	7,525	97,83
12. Milch Nr. 1 in ccm	2805,96	0,480	13,469	0,726	2037,13
Summa			29,449 g		6260,97 Cal.

[1]) Das Kind hat während der 4tägigen Versuchszeit im ganzen drei Konservenbüchsen à „50 g Fleisch und 10 g Butter" verzehrt, d. i. pro Tag die oben angegebene Menge.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 226,6 g, das des lufttrocknen 66,48 g mit 5,888% N und 5,079 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	29,5	6261
Ausgabe (Kot)	3,9	338
Resorbiert	25,6	5923
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	86,8	95

Die Zusammensetzung des Urins ist:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins
Vom 6.— 7. 11. 03	459	4,905	
„ 7.— 8. 11. 03	461,5	4,891	
„ 8.— 9. 11. 03	566,5	5,490	
„ 9.—10. 11. 03	691,5	6,221	
Summa	2178,5	21,507	300,62 Cal.

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 4,1 g N angesetzt und 5622 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
in Prozenten des Resorbierten
16,0 N und 95 Cal.
in Prozenten des Eingeführten 13,9 N und 90 Cal.

Von dem Brennwert der Nahrung sind mithin dem Körper 90% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Tagen sind:

Datum			Gewicht	
24.	Oktober	1903	17 605,0 g	
26.	„	„	17 945,5 „	
28.	„	„	17 716,2 „	
30.	„	„	17 902,5 „	
1.	November	„	18 328,2 „	
2.	„	„	17 924,3 „	
3.	„	„	17 892,9 „	
6.	„	„	17 444,2 „	Versuchszeit
7.	„	„	17 314,2 „	Versuchszeit
8.	„	„	17 675,0 „	Versuchszeit
9.	„	„	17 762,4 „	Versuchszeit
10.	„	„	17 702,2 „	Versuchszeit
11.	„	„	17 597,5 „	
13.	„	„	17 689,0 „	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 6.—10. November beträgt + 258,0 g, das mittlere Gewicht 17573,2 g.

II. Versuchsreihe: 5 Kinder.

Vorversuch vom 30. November bis 6. Dezember 1903 (7 Tage).

Eigentlicher Versuch vom 7.—12. Dezember 1903 (6 Tage).

In dieser und den folgenden Versuchsreihen sind, wie erwähnt, die Werte für die Vorversuche fortgelassen und in den Hauptversuchen nur die Mengen für die Nahrungsmittel angegeben worden, welche die Kinder in Summa während des ganzen Versuches aufgenommen haben.

Kind Nr. 7, Tinz, ist ein zarter, dünner Knabe mit gesundem Schlaf. Der Appetit ist mäßig zu nennen. Das Temperament ist weder ausgesprochen lebhaft noch ruhig. Er ist zur Versuchszeit 5 Jahre 1 Monat alt und wiegt im Mittel der Versuchszeit 13,021 kg (17,4 kg).

Die folgende Tabelle enthält die Mengen der einzelnen Nahrungsmittel, welche das Kind während des Versuches aufgenommen hat, ihren N-Gehalt und ihren Energiewert.

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	65,72	—	—	3,96	260,25
2. Semmel	732,6	1,108	8,117	2,584	1893,04
3. Marmelade . . .	120,0	0,066	0,079	1,877	225,24
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett . . .	56,85	—	—	9,3	528,71
5. Butter	180,931	0,138	0,250	8,085	1462,83
6. Reis	35,0	0,87	0,305	3,963	138,71
7. Kartoffeln	80,0	0,784	0,627	3,655	292,40
8. Spinat	19	3,708	0,705	3,543	667,32
9. Schoten	30,0	3,821	1,146	4,059	121,77
10. Mohrrüben . . .	15,0	0,816	0,122	2,945	44,18
11. Mondamin . . .	40,0	—	—	3,553	142,12
12. Gelbei	40,0	5,092	2,037	7,525	301,0
13. Milch Nr. I in ccm	5314,4	0,480	25,509	0,726	3858,25
Summa			48,798 g		9690,99 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 224,1 g, das des lufttrocknen 76,41 g mit 4,398% N und 5,111 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	48,8	9691
Ausgabe (Kot)	3,4	391
Resorbiert	45,4	9300
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	93	96

Die Zusammensetzung des Urins ist:

	Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins
Vom	7.— 8. 12. 03	431,5	6,090	
„	8.— 9. 12. 03	542,5	6,840	
„	9.—10. 12. 03	533,5	6,968	
„	10.—11. 12. 03	588,5	6,938	
„	11.—12. 12. 03	771,5	7,947	
„	12.—13. 12. 03	622,5	8,805	
	Summa	3490,0	43,588	481,08 Cal.

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 1,8 g N angesetzt und 8819 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
in Prozenten des Resorbierten
4,0 N und 95 Cal.
in Prozenten des Eingeführten 3,7 N und 91 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 91% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Tagen sind:

Datum			Gewicht	
25.	November	1903	12 790,5	
30.	„	„	12 975,8	
2.	Dezember	„	13 084,5	
6.	„	„	12 925,1	
7.	„	„	12 784,1	Versuchszeit
8.	„	„	13 044,4	Versuchszeit
9.	„	„	13 138,9	Versuchszeit
10.	„	„	13 169,4	Versuchszeit
11.	„	„	13 155,0	Versuchszeit
12.	„	„	13 164,2	Versuchszeit
13.	„	„	13 258,0	Versuchszeit
15.	„	„	13 251,0	
18.	„	„	13 582,0	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 7.—13. Dezember beträgt + 473,9 g, das mittlere Gewicht 13021,1 g.

Kind Nr. 8, Harndt, ist ein sehr zarter, dünner Knabe mit gesundem Schlaf und gutem Appetit. Das Temperament ist weder ausgesprochen lebhaft noch ruhig. Er ist zur Versuchszeit 4 Jahre und 3 Monate alt und wiegt im Mittel derselben 12,605 kg (15,8 kg).

In der nachfolgenden Tabelle sind die Mengen der einzelnen Nahrungsmittel angegeben, welche das Kind während des ganzen Versuches zu sich genommen hat, ihr Gehalt an N und ihr Energiewert.

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	67,48	—	—	3,96	267,22
2. Semmel	716,10	1,108	7,934	2,584	1850,40
3. Marmelade	120,0	0,066	0,079	1,877	225,24
4. Konserve, Fleisch (wasser u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett	56,850	—	—	9,3	528,71
5. Butter	170,35	0,138	0,235	8,085	1377,28
6. Reis	35,0	0,870	0,305	3,963	138,71
7. Kartoffel n	80,0	0,784	0,627	3,655	292,40
8. Spinat	19,0	3,708	0,705	3,543	67,32
9. Schoten	30,0	3,821	1,146	4,059	121,77
10. Mohrrüben	15,0	0,816	0,122	2,945	44,18
11. Mondamin	45,0	—	—	3,553	159,89
12. Gelbei	48,0	5,092	2,444	7,525	361,20
13. Milch Nr 1 in ccm	5742,10	0,480	27,562	0,726	4168,76
Summa			51,060 g		9958,25 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 726,4 g, das des lufttrocknen 131,39 g mit 7,015% N und 5,111 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	51,1	9958
Ausgabe (Kot)	9,2	672
Resorbiert	41,9	9286
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	82,0	93

Die Zusammensetzung des Urins ist:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins
Vom 7.— 8. 12. 03	377,5	5,670	
„ 8.— 9. 12. 03	504,5	6,068	
„ 9.—10. 12. 03	464,5	5,835	
„ 10.—11. 12. 03	450,5	7,043	
„ 11.—12. 12. 03	497,5	5,550	
„ 12.—13. 12. 03	540,5	5,940	
Summa	2835,0	36,106	389,23 Cal.

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 5,8 g N angesetzt und 8897 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 14,0 N und 96 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 11,4 N und 89 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 89% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Tagen sind in g:

25. November 1903	12 636,8	
30. „ „	12 327,5	
2. Dezember „	12 608,7	
6. „ „	12 605,0	
7. „ „	12 452,2	Versuchszeit
8. „ „	12 675,1	
9. „ „	12 749,1	
10. „ „	12 753,9	
11. „ „	12 829,5	
12. „ „	12 832,5	
13. „ „	12 758,5	
15. „ „	12 922,8	
18. „ „	12 903,4	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 7.—13. Dezember beträgt + 306,3 g, das mittlere Gewicht 12605,4 g.

Kind Nr. 9, Pioch, ist ein mäßig kräftiger Knabe mit gutem Appetit und Schlaf. Das Temperament ist ausgesprochen lebhaft. Er ist 6 Jahre alt und wiegt im Mittel der Versuchszeit 16,941 kg (19,5 kg).

Die Nahrungsaufnahme:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	76,07	—	—	3,96	301,24
2. Semmel	765,20	1,108	8,478	2,584	1997,28
3. Marmelade . . .	120,0	0,066	0,079	1,877	225,24
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett . . .	56,850	—	—	9,3	528,71
5. Butter	184,107	0,138	0,254	8,085	1488,5
6. Reis	35,0	0,870	0,305	3,963	138,71
7. Kartoffeln . . .	90,0	0,784	0,706	3,655	328,95
8. Spinat	19,0	3,708	0,705	3,543	67,32
9. Schoten	30,0	3,821	1,146	4,059	121,77
10. Mohrrüben . . .	15,0	0,816	0,122	2,945	44,18
11. Mondamin . . .	45,0	—	—	3,553	159,89
12. Gelbei	48,0	5,092	2,444	7,525	361,2
13. Milch Nr. 1 in ccm	5772,4	0,48	27,708	0,726	4190,8
Summa			51,848 g		10308,9

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 252,1 g, das des lufttrocknen 81,62 g mit 5,602% N und 4,759 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	51,8	10309
Ausgabe (Kot)	4,6	388
Resorbiert	47,2	9921
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	91,1	96

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins
Vom 7.— 8. 12. 03	442,5	7,958	
„ 8.— 9. 12. 03	527,5	8,025	
„ 9.—10. 12. 03	503,5	6,473	
„ 10.—11. 12. 03	628,5	8,483	
„ 11.—12. 12. 03	731,5	7,407	
„ 12.—13. 12. 03	489,5	6,713	
Summa	3323,0	45,059	433,77 Cal.

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 2,1 g N angesetzt und 9487 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 4,4 N und 96 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 4,1 N und 92 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 92% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum			Gewicht	
25.	November	1903	17 349,8	
30.	„	„	16 922,1	
2.	Dezember	„	17 144,0	
6.	„	„	17 126,2	
7.	„	„	16 805,7	Versuchszeit
8.	„	„	16 994,8	Versuchszeit
9.	„	„	17 140,4	Versuchszeit
10.	„	„	17 333,2	Versuchszeit
11.	„	„	17 067,7	Versuchszeit
12.	„	„	17 043,0	Versuchszeit
13.	„	„	17 075,4	Versuchszeit
15.	„	„	17 441,0	
18.	„	„	17 204,5	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 7.—13. November beträgt + 269,7 g, das mittlere Gewicht 16 940,6 g.

Kind Nr. 10, Hecke, ist ein kleiner, zierlicher Knabe mit lebhaftem Temperament und gutem Schlaf. Der Appetit ist schlecht zu nennen. Das Kind ist 3 Jahre alt und wiegt im Mittel der Versuchszeit 9,838 kg (13,2 kg).

Die Nahrungsaufnahme während des ganzen Versuches ist die folgende:

	Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1.	Zucker	36,98	—	—	3,96	146,4
2.	Semmel	392,8	1,108	4,352	2,584	1015,0
3.	Marmelade	100,0	0,066	0,066	1,877	187,7
4.	Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	35,1584	14,081	4,951	5,051	177,6
	reines Fett	28,425	—	—	9,3	264,4
5.	Butter	91,04	0,138	0,126	8,085	736,1
6.	Reis	5,0	0,870	0,044	3,963	19,8
7.	Kartoffeln	70,0	0,784	0,549	3,655	255,9
8.	Spinat	11,0	3,708	0,408	3,543	39,0
9.	Schoten	20,0	3,821	0,764	4,059	81,2
10.	Mohrrüben	8,0	0,816	0,065	2,945	23,6
11.	Mondamin	18,0	—	—	3,553	64,0
12.	Gelbei	32,0	5,092	1,629	7,525	240,8
13.	Milch Nr. 1 in ccm	4566,6	0,48	21,92	0,726	3315,4
	Summa			34,874 g		6566,6 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 405,7 g, das des lufttrocknen 66,55 g mit 5,735% N und 5,073 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	34,9	6567
Ausgabe (Kot)	3,8	338
Resorbiert	31,1	6229
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	89,1	95

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins
Vom 7.— 8. 12. 03	291,5	3,825	
„ 8.— 9. 12. 03	551,5	4,133	
„ 9.—10. 12. 03	320,5	4,253	
„ 10.—11. 12. 03	339,5	4,881	
„ 11.—12. 12. 03	494,5	4,755	
„ 12.—13. 12. 03	494,5	3,729	
Summa	2492,0	25,576	275,5 Cal.

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 5,5 g N angesetzt und 5953 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 17,7 N und 96 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 15,8 N und 91 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 91% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

25. November 1903	9 978,7	
30. „ „	9 715,5	
2. Dezember „	9 943,4	
6. „ „	9 957,4	
7. „ „	9 869,0	Versuchszeit
8. „ „	10 111,0	Versuchszeit
9. „ „	9 870,6	Versuchszeit
10. „ „	9 896,0	Versuchszeit
11. „ „	10 107,0	Versuchszeit
12. „ „	10 112,3	Versuchszeit
13. „ „	9 807,7	Versuchszeit
15. „ „	9 879,8	
18. „ „	9 821,3	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 7.—13. November beträgt — 61,3 g, das mittlere Gewicht 9838,4 g.

Kind Nr. 11, Lückmann, ist ein zarter, dünner Knabe mit gutem Appetit und Schlaf. Das Temperament ist weder ausgesprochen lebhaft noch ruhig. Das Kind ist 3 Jahre 5 Monate alt und wiegt im Mittel der Versuchszeit 11,728 kg (14,3).

Die während der ganzen Versuchszeit aufgenommenen Nahrungsmittel:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	81,77	—	—	3,96	323,81
2. Semmel	382,8	1,108	4,241	2,584	989,16
3. Marmelade . . .	120,0	0,066	0,079	1,877	225,24
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	35,1584	14,081	4,951	5,051	177,59
reines Fett . . .	28,425	—	—	9,3	264,35
5. Butter	130,663	0,138	0,180	8,085	1056,41
6. Reis	30,0	0,870	0,261	3,963	118,89
7. Kartoffeln	70,0	0,784	0,549	3,655	255,85
8. Spinat	12,0	3,708	0,445	3,543	42,52
9. Schoten	20,0	3,821	0,764	4,059	81,18
10. Mohrrüben . . .	10,0	0,816	0,082	2,945	29,45
11. Mondamin . . .	28,0	—	—	3,553	99,48
12. Gelbei	48,0	5,092	2,444	7,525	361,20
13. Milch Nr. 1 in ccm	4669,9	0,48	22,416	0,726	3390,35
Summa			36,412 g		7415,48 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 382,1 g, das des lufttrocknen 74,72 g mit 5,997% N und 5,004 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	36,4	7415
Ausgabe	4,5	374
Resorbiert	31,9	7041
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	87,6	95

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins
Vom 7.— 8. 12. 03	301,5	4,740	
„ 8.— 9. 12. 03	317,5	5,243	
„ 9.—10. 12. 03	394,5	5,603	
„ 10.—11. 12. 03	311,5	5,618	
„ 11.—12. 12. 03	365,5	4,988	
„ 12.—13. 12. 03	426,5	4,988	
Summa	2117,0	30,992	333,27 Cal.

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 0,9 g N angesetzt und 6708 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 2,8 N und 95 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 2,5 N und 90 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 90% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum	Gewicht	
25. November 1903	11 652,1	
30. „ „	11 659,7	
2. Dezember „	11 878,8	
6. „ „	11 815,5	
7. „ „	11 677,8	Versuchszeit
8. „ „	11 841,4	Versuchszeit
9. „ „	11 003,8	Versuchszeit
10. „ „	11 845,5	Versuchszeit
11. „ „	11 931,1	Versuchszeit
12. „ „	11 932,5	Versuchszeit
13. „ „	11 777,2	Versuchszeit
15. „ „	11 929,5	
18. „ „	12 275,0	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 7.—13 November beträgt + 99,4 g, das mittlere Gewicht 11 727,5 g.

3. Versuchsreihe (6 Kinder).

Vorversuch vom 18.—24. Januar (7 Tage).

Hauptversuch vom 25.—30. Januar (6 Tage).

In den vorhergehenden beiden Versuchsreihen wurden nur die von den Kindern aufgenommenen einzelnen Nahrungsmittel genau gewogen. Das Gewicht der fertigen Speisen, welche aus diesen unter verschiedenartiger Kombination zubereitet wurden, wurde nicht bestimmt. In den nachfolgenden drei Versuchen wurden zur Berechnung der Perspiratio insensibilis auch die fertigen Speisen gewogen und das im Laufe des Tages getrunkene Wasser gemessen. Dazu wurde das Gewicht jedes Tagesurins festgestellt. Der frische Kot wurde in allen Versuchen gewogen. Diese drei Versuchsreihen bringen also, da auch die Körpergewichtsdifferenz während des Versuches bei jedem Kinde festgestellt wurde, die genauen Gewichtsangaben für eine Berechnung der Perspiratio insensibilis. Bei zwei Kindern der nächsten Versuchsreihe (Kind Nr. 14, Päschel, und Kind Nr. 17, Struß) habe ich neben den täglichen Nahrungsaufnahmen auch die Gewichtsbestimmungen der fertigen Speisen aufgeführt, um die Art und Weise zu zeigen, wie dieselben vorgenommen worden sind. Bei den Urinen ist nur das Gewicht des Gesamturins während des ganzen Versuches bei jedem Kinde angegeben. Dieser Wert stellt die Summe der Gewichte der einzelnen Tagesurine dar.

Kind Nr. 12, Winkler, ist ein kleiner, zarter Knabe mit gutem Appetit und Schlaf und mäßig lebhaftem Temperament. Er ist 6 Jahre 2 Monate alt und wiegt im Mittel der Versuchszeit 12,344 kg (20,1 kg).

Die Nahrungsaufnahme während der ganzen Versuchszeit:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	52,64	—	—	3,96	208,45
2. Semmel	891,40	1,386	12,355	3,399	3029,87
3. Marmelade . . .	80,0	0,066	0,053	1,877	150,16
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett . . .	56,850	—	—	9,30	528,71
5. Butter	59,647	0,138	0,082	8,085	482,25
6. Reis	25,0	0,870	0,218	3,963	99,08
7. Kartoffeln . . .	80,0	0,784	0,627	3,655	292,40
8. Spinat	18,0	3,708	0,667	3,543	63,77
9. Schoten	—	—	—	—	—
10. Mohrrüben . . .	24,0	0,816	0,196	2,945	70,68
11. Mondamin . . .	20,0	—	—	3,553	71,06
12. Gelbei	28,5	5,092	1,451	7,525	214,46
13. Milch Nr. 1 in ccm	5204,1	0,48	24,980	0,726	3778,18
Summa			50,530 g		9344,24 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 751,6 g, das des lufttrocknen 133,47 g mit 6,596% N und 4,635 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	50,5	9344
Ausgabe (Kot)	8,8	619
Resorbiert	41,7	8725
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	82,6	93

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Mènge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 25.—26. 1. 04	383,5	5,617		
„ 26.—27. 1. 04	421,5	5,543		
„ 27.—28. 1. 04	438,5	5,378		
„ 28.—29. 1. 04	467,5	6,398		
„ 29.—30. 1. 04	473,5	5,888		
„ 30.—31. 1. 04	411,5	5,625		
Summa:	2596,0	34,449	375,05 Cal.	2683,5 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 7,3 g N angesetzt und 8350 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 17,5 N und 96 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 14,5 N und 89 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 89% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum		Gewicht	
8. Januar	1904	12 360,0	
18. „	„	12 143,0	
20. „	„	12 453,0	
23. „	„	12 399,5	
25. „	„	12 222,7	Versuchszeit
26. „	„	12 305,2	Versuchszeit
27. „	„	12 587,0	Versuchszeit
28. „	„	12 419,6	Versuchszeit
29. „	„	12 597,3	Versuchszeit
30. „	„	12 545,2	Versuchszeit
31. „	„	12 465,0	Versuchszeit
3. Februar	„	12 632,5	
6. „	„	12 639,0	

Berechnung d. Perspiratio insensibilis:

Aufnahme	+ 7519,1 g
Verlust (Kot)	— 751,6 „
„ (Urin)	— 2683,5 „
Rest	+ 4084,0 g
Gewichtszunahme	+ 242,3 „
Bleibt Rest für Perspir. insensib.	+ 3841,7 g

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 25.—30. Januar beträgt + 242,3 g, das mittlere Gewicht 12 343,9 g.

Kind Nr. 13, Malitzki, ist ein dicker, ruhiger und schwerfälliger Knabe mit gutem Appetit und Schlaf. Er ist zur Versuchszeit 4 Jahre und 4 Monate alt. Das Durchschnittsgewicht beträgt 14,007 kg (15,8 kg).

Die während der ganzen Versuchszeit aufgenommenen Nahrungsmittel betragen:

	Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1.	Zucker	20,46	—	—	3,96	81,02
2.	Semmel	1057,9	1,386	14,662	3,399	3595,8
3.	Marmelade . . .	100,0	0,066	0,066	1,877	187,70
4.	Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
	reines Fett . . .	56,850	—	—	9,3	528,71
5.	Butter	67,685	0,138	0,093	8,085	547,23
6.	Kartoffeln	80,0	0,784	0,627	3,655	292,40
7.	Spinat	20,0	3,708	0,742	3,543	70,86
8.	Mohrrüben . . .	24,0	0,816	0,196	2,945	70,68
9.	Gelbei	31,5	5,092	1,604	7,525	237,04
10.	Milch in ccm (Nr. 1)	5010,8	0,48	24,052	0,726	3637,84
	Summa			51,943 g		9604,45 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 638,2 g, das des lufttrocknen 107,03 g mit 5,521% N und 5,112 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	51,9	9604
Ausgabe	5,9	547
Resorbiert	46,0	9057
Resorbiert in Prozenten der Einnahme.	88,6	94

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 27.—28. 1. 04	437,5	5,618		
„ 28.—29. 1. 04	418,5	6,038		
„ 29.—30. 1. 04	416,5	5,798		
„ 30.— 1. 2. 04	423,5	5,895		
„ 1.— 2. 2. 04	504,5	6,825		
„ 2.— 3. 2. 04	454,5	6,900		
Summa:	2665,0	37,074	372,06 Cal.	2729,5 g

Aus der Differenz der resorbierten Mengen und der im Urin ausgeschiedenen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 8,9 g N angesetzt und 8685 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 19,4 N und 96 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 17,1 N und 90 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 90% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

8.	Januar	1904	13 911	
18.	„	„	13 923	
20.	„	„	14 025	
23.	„	„	14 080,7	
25.	„	„	13 849,3	
26.	„	„	13 827,5	
27.	„	„	13 875,5	Versuchszeit
28.	„	„	13 979,2	
29.	„	„	14 196,5	
30.	„	„	14 054,1	
31.	„	„	13 901,8	
1.	Februar	„	14 251,4	
2.	„	„	14 138,4	
3.	„	„	14 268,2	
6.	„	„	13 938,2	
8.	„	„	13 916,4	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 27. Januar bis 2. Februar[1]) beträgt + 262,9 g, das mittlere Gewicht 14 006,95 g.

Gewichtsdaten für die Berechnung der Perspiratio insensibilis:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 7600,0 g
Verlust mit dem Kote	− 638,2 „
„ „ „ Urin	− 2729,5 „
Rest	+ 4232,3 g
Gewichtsveränderung während des Versuchs	+ 262,9 „
Bleibt Rest für d. Perspiratio insensibilis	+ 3969,4 g

Kind Nr. 14, Päschel, ist ein dünner, zarter und lebhafter Knabe. Das Kind ißt nicht mit ausgesprochen gutem Appetit. Der Schlaf ist direkt schlecht zu nennen, das Kind ist nachts unruhig und wacht häufig auf. Das Alter des Kindes ist 3 Jahre und 3 Monate, das Durchschnittsgewicht beträgt 10,959 kg (13,8 kg).

Während des Hauptversuches vom 25.—30. 1. 04 war die Nahrungsaufnahme die folgende:

---

[1]) Dieser Versuch wurde äußerer Umstände wegen um 2 Tage verschoben.

1. Tag am 25. 1. 04.

1. Milch (getrunken) .	599,6	g
2. Semmel	105,3	„
3. Butter (gegessen) .	8,837	„
4. Fleisch und Gemüse:		
a) Fleisch	50,0	„
b) Spinat	6,0	„
c) Butter (Konserve)	10,0	„
d) Salz	1,5	„
e) Kochwasser . . .	700,0	„
Gewicht d. eßfertigen Speise unter Nr. 4 Sa.:	102,3	g
5. Mondaminspeise:		
a) Zucker	6,12	„
b) Mondamin . . .	8,0	„
c) Salz	1,5	„
d) Gelbei	5,0	„
e) Butter (frisch) .	8,136	„
f) Milch	221,7	„
Gewichte der eßfertigen Speise unter Nr. 5 Sa.:	223,3	g
6. Marmelade	20.0	„
7. getrunkenes Wasser	40,0	„

2. Tag am 26. 1. 04.

1. Milch (getrunken) .	682,5	g
2. Semmel	98,5	„
3. Butter (gegessen) .	11,866	„
4. Fleisch und Gemüse:		
a) Fleisch	50,0	„
b) Kartoffeln . . .	40,0	„
c) Butter (Konserve)	10,0	„
d) Salz	2,0	„
e) Kochwasser . . .	750,0	„
	289,8	g
5. Reisspeise:		
a) Zucker	13,83	„
b) Reis	25,0	„
c) Salz	2,0	„
d) Milch.	252,0	„
e) Kochwasser . . .	200,0	„
f) Butter (frisch) .	10,0	„
	251,8	g
6. Marmelade	20,0	„

3. Tag am 27. 1. 04.

1. Milch (getrunken) .	637,4	g
2. Semmel	118,9	„
3. Butter (gegessen) . .	9,176	„
4. Fleisch und Gemüse:		
a) Fleisch	50,0	„
b) Mohrrüben . . .	10,0	„
c) Butter (Konserve)	10,0	„
d) Salz	2,0	„
e) Kochwasser . . .	1150	„
Gewicht der eßfertigen Speise unter Nr. 4 Sa.:	155,1	g
5. Gelbei	7,5	„

4. Tag am 28. 1. 04.

1. Milch (getrunken) .	733,3	g
2. Semmel	83,9	„
3. Butter (gegessen) .	11,510	„
4. Fleisch und Gemüse:		
a) Fleisch	50,0	„
b) Kartoffeln . . .	40,0	„
c) Butter (Konserve)	10,0	„
d) Salz	2,0	„
e) Kochwasser . . .	750,0	„
	287,6	g

5. Tag am 29. 1. 04.

1. Milch getrunken . .	818,0	g
2. Semmel	113,5	„
3. Butter	6,858	„
4. Fleisch und Gemüse:		
a) Fleisch	50,0	„
b) Mohrrüben . . .	10,0	„
c) Butter (Konserve)	10,0	„

6. Tag am 30. 1. 04.

1. Milch getrunken . .	772,0	g
2. Semmel	113,9	„
3. Butter	6,861	„
4. Fleisch und Gemüse:		
a) Fleisch	50,0	„
b) Spinat	8,0	„
c) Butter (Konserve)	10,0	„

d) Salz	2,0	g	d) Salz	2,0	g
e) Kochwasser . . .	750,0	„	e) Zucker	7,64	„
Gewicht der eßfertigen			f) Kochwasser . . .	500,0	„
Speise unter Nr. 4 Sa.:	129,3	g		192,3	g
5. Marmelade	20,0	„	5. Marmelade	20,0	„

Die mit diesen Nahrungsmitteln aufgenommene N- und Energiemenge beträgt:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	27,59	—	—	3,96	109,26
2. Semmel	632,0	1,386	8,760	3,399	2148,17
3. Marmelade . . .	80,0	0,066	0,053	1,877	150,16
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett . . .	56,850	—	—	9,3	528,71
5. Butter	63,344	0,138	0,087	8,085	512,14
6. Reis	25,0	0,870	0,218	3,963	99,08
7. Kartoffeln	80,0	0,784	0,627	3,655	292,40
8. Spinat	14,0	3,708	0,519	3,543	49,60
9. Mohrrüben . . .	20,0	·0,816	0,163	2,945	58,90
10. Mondamin	8,0	—	—	3,553	28,42
11. Gelbei	12,5	5,092	0,637	7,525	94,06
12. Milch Nr. 1 in ccm	4618,5	0,48	22,169	0,726	3353,03
Summa			43,134 g		7779,10 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 261,6 g, das des lufttrocknen 73,79 g mit 5,489% N und 4,96 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	43,1	7779
Ausgabe (Kot)	4,1	366
Resorbiert	39,0	7413
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	90,5	95

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 25.—26. 1. 04	332,5	5,625		
„ 26.—27. 1. 04	446,5	5,370		
„ 27.—28. 1. 04	378,5	5,100		
„ 28.—29. 1. 04	379,5	5,738		
„ 29.—30. 1. 04	351,5	5,468		
„ 30.—31. 1. 04	464,5	5,835		
Summa . . .	2353,0	33,136	341,21 Cal.	2416,4 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 5,9 g N angesetzt und 7072 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 15,1 N und 98 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 13,7 N und 91 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 91% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

8.	Januar	1904	10 780	
18.	„	„	10 858	
20.	„	„	11 190	
23.	„	„	10 950,2	
25.	„	„	10 924,5	Versuchszeit
26.	„	„	11 059,0	Versuchszeit
27.	„	„	11 266,3	Versuchszeit
28.	„	„	11 065,5	Versuchszeit
29.	„	„	11 261,6	Versuchszeit
30.	„	„	11 201,3	Versuchszeit
31.	„	„	10 994,1	Versuchszeit
3.	Februar	„	11 175,0	
6.	„	„	11 007,5	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 25. 1.—30. 1. 04 beträgt + 69,6 g, das mittlere Gewicht 10 959,3 g.

Gewichtsangaben für die Berechnung der Perspiratio insensibilis:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 6687,4 g
Verlust durch den Kot	— 261,6 „
„ „ „ Urin	— 2416,4 „
Bleibt Rest	+ 4009,4 g
Körpergewichtsveränderung während d. Versuches	+ 69,6 „
Bleibt Rest für die Perspiratio insensibilis . . .	+ 3939,8 g

Kind Nr. 15, Moritz, ist ein Knabe mit gutem Appetit und Schlaf. Sein Temperament ist weder ausgesprochen lebhaft noch ruhig, und ebensowenig läßt er sich seiner Konstitution nach einer bestimmten Klasse zurechnen. Er ist zur Versuchszeit 2 Jahre 10 Monate alt und hat ein Durchschnittsgewicht von 11,011 kg (13,2).

Die Nahrungsaufnahme mit N-Gehalt und Energiewert:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	15,17	—	—	3,96	60,17
2. Marmelade . . .	80,0	0,066	0,053	1,877	150,16
3. Semmel	652,4	1,386	9,042	3,399	2217,51

4. Konserve, Fleisch					
(wasser- u. fettfrei)	35,1584	14,081	4,951	5,051	177,59
reines Fett . . .	28,425	—	—	9,3	264,35
5. Butter	66,959	0,138	0,092	8,085	541,36
6. Kartoffeln	75,0	0,784	0,588	3,655	274,13
7. Spinat	14,0	3,708	0,519	3,543	49,60
8. Mohrrüben . . .	20,0	0,816	0,163	2,945	58,9
9. Mondamin	8,0	—	—	3,553	28,42
10. Gelbei	12,5	5,092	0,637	7,525	94,06
11. Milch Nr. 1 in ccm	4607,2	0,48	22,115	0,726	3344,83
Summa			38,160 g		7260,98 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 530,9 g, das des lufttrocknen 92,37 g mit 5,595% N und 5,255 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	38,2	7261
Ausgabe (Kot)	5,2	485
Resorbiert	33,0	6776
Resorbiert in Prozenten der Einnahme.	86,4	93

Die Zusammensetzung des Urins:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 25.—26. 1. 04	428,5	4,300		
„ 26.—27. 1. 04	362,5	3,833		
„ 27.—28. 1. 04	345,5	4,178		
„ 28.—29. 1. 04	276,5	4,358		
„ 29.—30. 1. 04	345,5	4,508		
„ 30.—31. 1. 04	332,5	4,373		
Summa . . .	2091,0	25,550	298,49 Cal.	2360,7 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 7,4 g N angesetzt und 6478 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 22,4 N und 96 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 19,4 N und 89 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 89% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

8. Januar	1904	10 705
18. „	„	10 648
20. „	„	11 020
23. „	„	11 108,2

25.	„	„	10 945,3	Versuchszeit
26.	„	„	10 954,7	
27.	„	„	11 078,0	
28.	„	„	11 076,0	
29.	„	„	11 075,7	
30.	„	„	11 156,4	
31.	„	„	11 076,5	
1.	Februar	„	11 002,5	
3.	„	„	11 145,5	
6.	„	„	10 943,4	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 25. 1.—31. 1. 04 beträgt + 131,2 g, das mittlere Gewicht 11 010,9 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 6387,6 g
Verlust durch den Kot	— 530,9 „
„ „ „ Urin	— 2360,7 „
Bleibt Rest	+ 3496,0 g
Körpergewichtsveränderung während d. Versuches	+ 131,2 „
Bleibt Rest für d. Perspiratio insensibilis . . .	+ 3364,8 g

Kind Nr. 16, Strauß, ist ein zarter, graziler Knabe mit sehr lebhaftem Temperament. Der Appetit ist nur mäßig, der Schlaf etwas unruhig. Das Kind ist zur Versuchszeit 3 Jahre 4 Monate alt und hat ein Durchschnittsgewicht von 13,206 kg (14,0 kg).

Die Nahrungsaufnahme mit N-Gehalt und Energiewert der Nahrung:

	Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1.	Zucker	30,57	—	—	3,96	121,06
2.	Semmel	773,0	1,386	10,714	3,399	2627,43
3.	Marmelade . . .	80,0	0,066	0,053	1,877	150,16
4.	Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
	reines Fett . . .	56,850	—	—	9,3	528,71
5.	Butter	74,049	0,138	0,102	8,085	598,69
6.	Reis	25,0	0,870	0,218	3,963	99,08
7.	Kartoffeln	80,0	0,784	0,627	3,655	292,40
8.	Spinat	18,0	3,708	0,667	3,543	63,77
9.	Mohrrüben . . .	24,0	0,816	0,196	2,945	70,68
10.	Mondamin	20,0	—	—	3,553	71,06
11.	Gelbei	20,5	5,092	1,044	7,525	154,26
12.	Milch Nr. 2 in ccm	4683,2	0,48	22,479	0,726	3400,00
	Summa			46,001 g		8532,47 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 444,2 g, das des lufttrocknen 91,81 g mit 6,254% N und 5,067 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	46,0	8532
Ausgabe (Kot)	5,7	465
Resorbiert	40,3	8067
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	87,6	95

Die Zusammensetzung des Urins:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 25.—26. 1. 04	331,5	6,071		
„ 26.—27. 1. 04	462,5	6,338		
„ 27.—28. 1. 04	437,5	6,150		
„ 28.—29. 1. 04	391,5	5,835		
„ 29.—30. 1. 04	361,5	5,220		
„ 30.—31. 1. 04	418,5	5,835		
Summa . . .	2403,0	35,449	367,89 Cal.	2482,5 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 4,9 g N angesetzt und 7699 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 12,2 N und 95 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 10,7 N und 90 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 90% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum			Gewicht	
17.	Januar	1904	13 090	
18.	„	„	13 143	
20.	„	„	13 392	
23.	„	„	13 364,4	
25.	„	„	13 171,2	Versuchszeit
26.	„	„	13 318,1	
27.	„	„	13 484,4	
28.	„	„	13 365,9	
29.	„	„	13 439,5	
30.	„	„	13 273,0	
31.	„	„	13 241,2	
3.	Februar	„	13 297,0	
6.	„	„	13 152,5	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 25. 1. bis 31. 1. 04 beträgt + 70,0 g, das mittlere Gewicht 13 206,2 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 6819,6 g
Verlust durch den Kot	— 444,2 „
„ „ „ Urin	— 2482,5 „
Bleibt Rest	+ 3892,9 g
Körpergewichtsveränderung während d. Versuchszeit	+ 70,0 „
Bleibt Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 3822,9 g

Kind Nr. 17, Struß, ist ein ruhiger Knabe mit sehr gutem Appetit Das Kind wacht nachts häufig auf und ist unruhig. Seiner Konstitution nach ist er weder ausgesprochen dick noch dünn. Er ist zur Versuchszeit 3 Jahre 7 Monate alt und wiegt 14,014 kg (14,6 kg).

Während des Hauptversuches vom 25. 1.—30. 1. 04 war die Nahrungsaufnahme die folgende:

1. Tag am 25. 1. 04

1. Milch (getrunken)	602,5	g
2. Semmel	127,1	„
3. Butter (gegessen)	8,533	„
4. Fleisch und Gemüse:		
a) Fleisch	50,0	„
b) Spinat	6,0	„
c) Butter (Konserve)	10,0	„
d) Salz	1,5	„
e) Kochwasser	700,0	„
Gewicht der eßfertigen Speise unter Nr. 4 Sa.:	99,5	g
5. Mondaminspeise:		
a) Mondamin	10,0	„
b) Zucker	3,82	„
c) Salz	1,5	„
d) Kochmilch	245,2	„
e) Gelbei	5,0	„
f) Kochbutter	11,155	„
Gewicht der eßfertigen Speise unter Nr. 5 Sa.:	251,5	g
6. Marmelade	20,0	„
7. Trinkwasser	40,0	„

2. Tag am 26. 1. 04

1. Milch (getrunken)	736,5	g
2. Semmel	96,6	„
3. Butter (gegessen)	11,135	„
4. Fleisch und Gemüse:		
a) Fleisch	50,0	„
b) Kartoffeln	40,0	„
c) Butter (Konserve)	10,0	„
d) Salz	2,0	„
e) Kochwasser	750,0	„
	291,4	g
5. Milchreis:		
a) Reis	25,0	„
b) Zucker	15,2	„
c) Salz	2,0	„
d) Kochmilch	228,0	„
e) Kochwasser	200,0	„
	243,8	g
6. Marmelade	20,0	„

3. Tag am 27. 1. 04.

1. Milch (getrunken)	828,8	g
2. Semmel	121,6	„
3. Butter (gegessen)	11,76	„
4. Fleisch und Gemüse:		
a) Fleisch	50,0	„
b) Mohrrüben	10,0	„
c) Butter (Konserve)	10,0	„
d) Salz	2,0	„
e) Kochwasser	1150,0	„
Gewicht der eßfertigen Speise unter Nr. 4 Sa.:	120,4	g
5. Gelbei	7,5	„

4. Tag am 28. 1. 04.

1. Trinkmilch	871,8	g
2. Semmel	136,5	„
3. Eßbutter	10,131	„
4. Fleisch und Gemüse:		
a) Fleisch	50,0	„
b) Kartoffeln	40,0	„
c) Butter (Konserve)	10,0	„
d) Salz	2,0	„
e) Kochwasser	750,0	„
	261,7	g
5. Gelbei	8,0	„
6. Zucker	11,15	„

5. Tag am 29. 1. 04.

1. Trinkmilch	715,7	g
2. Semmel	102,9	„
3. Eßbutter	8,515	„
4. Fleisch und Gemüse:		
a) Fleisch	50,0	„
b) Mohrrüben . . .	12,0	„
c) Konservenbutter	10,0	„
d) Salz	2,0	„
e) Kochwasser . . .	1250,0	„
Gewicht der eßfertigen Speise unter Nr. 4 Sa.:	125,0	g
5. Mondaminspeise:		
a) Mondamin . . .	10,0	„
b) Zucker	4,38	„
c) Salz	2,0	„
d) Gelbei	8,0	„
e) Kochmilch . . .	232,1	„
Gewicht der eßfertigen Speise	235,2	g
6. Marmelade	14,0	„
7. Trinkwasser	40,0	„

6. Tag am 30. 1. 04.

1. Trinkmilch	787,20	g
2. Semmel	140,4	„
3. Eßbutter	7,744	„
4. Fleisch und Gemüse:		
a) Fleisch	50,0	„
b) Spinat	10,0	„
c) Konservenbutter	10,0	„
d) Salz	2,0	„
e) Kochwasser . . .	500,0	„
	169,5	g
5. Marmelade	20,0	„

Der N-Gehalt und der Energiewert der aufgenommenen Nahrungsmittel beträgt:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	39,79	—	—	3,96	157,57
2. Semmel	725,1	1,386	10,050	3,399	2464,61
3. Marmelade . . .	74,0	0,066	0,049	1,877	138,90
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett . . .	56,850	—	—	9,3	528,71
5. Butter	68,973	0,138	0,095	8,085	557,65
6. Reis	25,0	0,870	0,218	3,963	99,08
7. Kartoffeln	80,0	0,784	0,627	3,655	292,40
8. Spinat	16,0	3,708	0,593	3,543	56,69
9. Karotten	22,0	0,816	0,180	2,945	64,79
10. Mondamin	18,24	—	—	3,553	64,81
11. Gelbei	27,10	5,092	1,380	7,525	203,93
12. Milch Nr. 1 in ccm	5100,2	0,480	24,481	0,726	3702,75
Summa			47,574 g		8687,06 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 601,7 g, das des lufttrocknen 81,7 g mit 5,54% N und 4,498 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	47,6	8687
Ausgabe (Kot)	4,5	367
Resorbiert	43,1	8320
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	90,6	96

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 25.—26. 1. 04	372,5	5,820		
„ 26.—27. 1. 04	670,5	6,015		
„ 27.—28. 1. 04	368,5	5,370		
„ 28.—29. 1. 04	623,5	6,570		
„ 29.—30. 1. 04	431,5	5,625		
„ 30.—31. 1. 04	420,5	6,390		
Summa . . .	2887,0	35,790	350,35 Cal.	2965,3 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 7,3 g N angesetzt und 7970 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 16,9 N und 93 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 15,3 N und 92 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 92% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum			Gewicht	
17.	Januar	1904	13 890	
18.	„	„	13 905	
20.	„	„	14 117	
23.	„	„	14 094	
25.	„	„	13 847,7	Versuchszeit
26.	„	„	14 108,8	Versuchszeit
27.	„	„	14 209,5	Versuchszeit
28.	„	„	14 295,0	Versuchszeit
29.	„	„	14 365,0	Versuchszeit
30.	„	„	14 271,5	Versuchszeit
31.	„	„	14 180,5	Versuchszeit
3.	Februar	„	14 397,2	
6.	„	„	14 042,8	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 25.—31. 1. 04 beträgt + 332,8 g, das mittlere Gewicht 14 014,1 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 7262,5 g
Verlust durch den Kot	— 601,7 „
„ „ „ Urin	— 2965,3 „
Bleibt Rest	+ 3695,2 g
Körpergewichtsveränderung während d. Versuchszeit	+ 332,8 „
Bleibt Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 3362,4 g

4. Versuchsreihe (6 Kinder).

Vorversuch vom 12.—17. Februar 1904 (6 Tage).

Hauptversuch vom 18.—23. Februar 1904 (6 Tage).

Kind Nr. 18, Cimanowski, ist ein dünner, graziler Knabe mit sehr lebhaftem Temperament und gutem Appetit. Der Schlaf ist etwas unruhig, das Kind wacht öfters nachts auf. Das Alter zur Versuchszeit ist 5 Jahre 9 Monate, das Durchschnittsgewicht 14,834 kg (18,9 kg).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	22,57	—	—	3,96	89,38
2. Semmel	960,10	0,964	9,255	2,566	2463,62
3. Marmelade	120,0	0,066	0,079	1,877	225,24
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett	56,850	—	—	9,3	528,71
5. Butter	114,657	0,138	0,158	8,085	927,0
6. Reis	40,0	0,870	0,348	3,963	158,52
7. Kartoffeln	40,0	0,784	0,314	3,655	146,20
8. Spinat	20,0	3,708	0,742	3,543	70,86
9. Mohrrüben	20,0	0,816	0,163	2,945	58,90
10. Mondamin	12,0	—	—	3,553	42,64
11. Gelbei	48,0	5,092	2,444	7,525	361,20
12. Milch Nr. 2 in ccm	4576,6	0,477	21,830	0,671	3070,90
Summa			45,234 g		8498,34 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 413,5 g, das des lufttrocknen 104,63 g mit 7,27% N und 4,915 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	45,2	8498
Ausgabe (Kot)	7,6	514
Resorbiert	37,6	7984
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	83,2	94

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichts-Verlust durch den Urin
Vom 18.—19. 2. 04	473,5	5,425		
„ 19.—20. 2. 04	596,5	6,300		
„ 20.—21. 2. 04	460,5	5,695		
„ 21.—22. 2. 04	504,5	5,633		
„ 22.—23. 2. 04	552,5	6,383		
„ 23.—24. 2. 04	547,5	6,938		
Summa . . .	3135,0	36,374	387,24 Cal.	3219,8 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 1,2 g N angesetzt und 7597 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 3.2 N und 94 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 2,7 N und 89 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 89% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum			Gewicht	
12.	Februar	1904	14 883,5	
14.	„	„	14 880,0	
16.	„	„	14 698,0	
18.	„	„	14 769,4	Versuchszeit
19.	„	„	14 727,5	Versuchszeit
20.	„	„	14 810,5	Versuchszeit
21.	„	„	15 000,4	Versuchszeit
22.	„	„	14 975,5	Versuchszeit
23.	„	„	14 918,0	Versuchszeit
24.	„	„	14 898,2	Versuchszeit
27.	„	„	14 940,0	
1.	März	„	15 142,0	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 18.—24. 2. 04 beträgt + 128,8 g, das mittlere Gewicht 14833,8 g.

Die Werte für die Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 7300,4 g
Verlust mit dem Kote	— 413,5 „
„ „ „ Urin	— 3219,8 „
Bleibt Rest	+ 3667,1 g
Körpergewichtsveränderung während d. Versuchszeit	+ 128,8 „
Bleibt Rest für die Perspiratio insensibilis . . .	+ 3538,3 g

Kind Nr. 19, Rodewald, ist ein kleiner, dünner Knabe mit lebhaftem Temperament. Der Appetit ist ausgesprochen schlecht. Der Schlaf ist etwas unruhig. Das Kind ist zur Versuchszeit 2 Jahre 1 Monat alt und hat ein Durchschnittsgewicht von 10,091 kg (10,4 kg).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

	Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1.	Zucker	42,07	—	—	3,96	166,60
2.	Semmel	553,80	0,964	5,339	2,566	1421,05
3.	Marmelade . . .	120,0	0,066	0,079	1,877	225,24
4.	Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	35,1584	14,081	4,951	5,051	177,59
	reines Fett . . .	28,425	—	—	9,3	264,35
5.	Butter	23,754	0,138	0,033	8,085	192,05
6.	Reis	25,0	0,870	0,218	3,963	99,08
7.	Kartoffeln	30,0	0,784	0,235	3,655	109,65
8.	Spinat	14,0	3,708	0,519	3,543	49,60
9.	Mohrrüben . . .	10,0	0,816	0,082	2,945	29,45
10.	Mondamin	10,0	—	—	3,553	35,53
11.	Gelbei	48,0	5,092	2,444	7,525	361,20
12.	Milch Nr. 2 in ccm	3642,1	0,477	17,373	0,671	2443,85
	Summa			31,273 g		5575,24 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 267,9 g, das des lufttrocknen 59,5 g mit 6,066% N und 4,707 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	31,3	5575
Ausgabe (Kot)	3,6	280
Resorbiert	27,7	5295
Resorbiert in Prozenten der Einnahme.	88,5	95

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 18.—19. 2. 04	342,0	4,532		
„ 19.—20. 2. 04	348,5	4,635		
„ 20.—21. 2. 04	336,5	4,435		
„ 21.—22. 2. 04	226,5	4,155		
„ 22.—23. 2. 04	326,5	4,730		
„ 23.—24. 2. 04	352,5	5,070		
Summa . . .	1932,5	27,557	242,66 Cal.	2008,6 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 0,1 g N angesetzt und 5052 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 0,4 N und 95 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 0,3 N und 91 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 91% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

12. Februar 1904	10 118,0	
14. „ „	10 150,0	
16. „ „	10 076,0	
18. „ „	10 129,7	Versuchszeit
19. „ „	10 069,0	
20. „ „	10 089,8	
21. „ „	10 119,8	
22. „ „	10 081,4	
23. „ „	10 034,5	
24. „ „	10 051,5	
27. „ „	10 080,0	
1. März „	10 073,0	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 18.—24. 2. 04 beträgt — 78,2 g, das mittlere Gewicht 10 090,6 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 4968,3 g
Verlust mit dem Kote	— 267,9 „
„ „ „ Urin	— 2008,6 „
Bleibt Rest	+ 2691,8 g
Gewichtsveränderung während der Versuchszeit	— 78,2 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 2770,0 g

Kind Nr. 20, Lose, ist ein zarter Knabe mit mäßig lebhaftem Temperament und leidlichem Schlaf. Der Appetit ist schlecht. Das Kind ist zur Versuchszeit 2 Jahre 2 Monate alt und wiegt 9,297 kg (10,6 kg).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

	Menge	N-Gehalt		Energiewert	
Nahrungsmittel	in g	%	absolut	pro g in Cal.	Summa
1. Zucker	81,91	—	—	3,96	324,36
2. Semmel	439,0	0,964	4,232	2,566	1126,47
3. Marmelade	120,0	0,066	0,079	1,877	225,24
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	35,1584	14,081	4,951	5,051	177,59
reines Fett	28,425	—	—	9,3	264,35
5. Butter	20,773	0,138	0,029	8,085	167,95
6. Reis	25,0	0,870	0,218	3,963	99,08
7. Kartoffeln	30,0	0,784	0,235	3,655	109,65
8. Spinat	14,0	3,708	0,519	3,543	49,6
9. Mohrrüben	10,0	0,816	0,082	2,945	29,45
10. Mondamin	10,0	—	—	3,553	35,53
11. Gelbei	48,0	5,092	2,444	7,525	361,20
12. Milch Nr. 2 in ccm	3282,6	0,477	15,658	0,671	2202,62
Summa			28,447 g		5173,09 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 384,6 g, das des lufttrocknen 77,56 g mit 6,003% N und 5,444 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	28,4	5173
Ausgabe (Kot)	4,7	422
Resorbiert	23,7	4751
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	83,5	92

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 18.—19. 2. 04	282,5	3,720		
„ 19.—20. 2. 04	265,5	3,495		
„ 20.—21. 2. 04	227,5	3,533		
„ 21.—22. 2. 04	241,5	3,336		
„ 22.—23. 2. 04	230,5	3,530		
„ 23.—24. 2. 04	286,5	4,265		
Summa . . .	1534,0	21,879	233,06 Cal.	1591,0 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 1,8 g N angesetzt und 4518 Cal. angesetzt resp. verbrannt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 7,6 N und 95 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 6,3 N und 87 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 87% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum	Gewicht	
12. Februar 1904	9042,5	
14. „ „	9025,0	
16. „ „	9157,0	
18. „ „	9327,2	Versuchszeit
19. „ „	9243,5	Versuchszeit
20. „ „	9270,0	Versuchszeit
21. „ „	9430,0	Versuchszeit
22. „ „	9342,0	Versuchszeit
23. „ „	9215,7	Versuchszeit
24. „ „	9265,7	Versuchszeit
27. „ „	9236,0	
1. März „	9202,0	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 18.—24. 2. 04 beträgt — 61,5 g, das mittlere Gewicht 9296,5 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 4612,8 g
Verlust mit dem Kote	— 384,6 „
„ „ „ Urin	— 1591,0 „
Bleibt Rest	+ 2637,2 g
Körpergewichtsveränderung während d. Versuchszeit	— 61,5 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 2698,7 g

Kind Nr. 21, Radünz, ist ein gut genährtes Mädchen mit geringem Turgor der Haut. Sie ist ein lebhaftes Kind mit mäßigem Appetit und schläft nachts etwas unruhig. Das Alter zur Versuchszeit beträgt 2 Jahre 11 Monate, das Durchschnittsgewicht 10,473 kg (11,8 kg).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	76,43	—	—	3,96	302,66
2. Semmel	471,10	0,964	4,541	2,566	1208,84
3. Marmelade	120,0	0,066	0,079	1,877	225,24
4. Konserve, Fleisch					
(wasser- u. fettfrei)	35,1584	14,081	4,951	5,051	177,59
reines Fett	28,425	—	—	9,3	264,35
5. Butter	24,057	0,138	0,033	8,085	194,50
6. Reis	25,0	0,870	0,218	3,963	99,08
7. Kartoffeln	60,0	0,784	0,470	3,655	219,30
8. Spinat	7,0	3,708	0,260	3,543	24,80
9. Mohrrüben	10,0	0,816	0,082	2,945	29,45
10. Mondamin	10,0	—	—	3,553	35,53
11. Gelbei	48,0	5,092	2,444	7,525	361,20
12. Milch Nr. 2 in ccm	4684,7	0,477	22,346	0,671	3143,43
Summa			35,424 g		6285,97 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 283,9 g, das des lufttrocknen 63,3 g mit 6,28% N und 4,66 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	35,4	6286
Ausgabe (Kot)	4,0	295
Resorbiert	31,4	5991
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	88,7	95

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 18.—19. 2. 04	441,5	4,215		
„ 19.—20. 2. 04	339,5	3,470		
„ 20.—21. 2. 04	439,5	5,025		
„ 21.—22. 2. 04	373,5	4,475		
„ 22.—23. 2. 04	301,5	4,133		
„ 23.—24. 2. 04	358,5	4,865		
Summa . . .	2254,0	26,213	310,45 Cal.	2323,2 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 5,2 g N angesetzt und 5681 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 16,6 N und 95 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 14,7 N und 90 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 90% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum	Gewicht	
12. Februar 1904	10 577,3	
14. „ „	10 448,0	
16. „ „	10 446,0	
18. „ „	10 687,4	Versuchszeit
19. „ „	10 545,7	Versuchszeit
20. „ „	10 442,5	Versuchszeit
21. „ „	10 579,5	Versuchszeit
22. „ „	10 581,7	Versuchszeit
23. „ „	10 600,2	Versuchszeit
24. „ „	10 587,9	Versuchszeit
25. „ „	10 522,0	
26. „ „	10 504,0	
28. „ „	10 496,0	
1. März „	10 560,0	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 18.—24. 2. 04 beträgt + 61,5 g, das mittlere Gewicht 10 473,3 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 6201,0 g
Verlust mit dem Kote	— 283,9 „
„ „ „ Urin	— 2323,2 „
Bleibt Rest	+ 2607,1 g
Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit . . .	+ 61,5 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 3532,4 g

Kind Nr. 22, Heise, ist ein dickes Mädchen mit ruhigem, phlegmatischem Temperament und gesundem Schlaf. Der Appetit ist nur mäßig zu nennen. Das Kind ist zur Versuchszeit 2 Jahre 9 Monate alt und wiegt 13,446 kg (11,5 kg).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

	Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1.	Zucker	74,7	—	—	3,96	295,81
2.	Semmel	475,0	0,964	4,579	2,566	1218,85
3.	Marmelade . . .	120,0	0,066	0,079	1,877	225,24
4.	Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	35,1584	14,081	4,951	5,051	177,59
	reines Fett . . .	28,425	—	—	9,3	264,35
5.	Butter	19,545	0,138	0,027	8,085	158,02
6.	Reis	25,0	0,870	0,218	3,963	99,08
7.	Kartoffeln	30,0	0,784	0,235	3,655	109,65
8.	Spinat	14,0	3,708	0,519	3,543	49,60
9.	Mohrrüben . . .	10,0	0,816	0,082	2,945	29,45
10.	Mondamin	10,0	—	—	3,553	35,53
11.	Gelbei	48,0	5,092	2,444	7,525	361,20
12.	Milch Nr. 2 in ccm	4076,8	0,477	19,446	0,671	2735,53
	Summa			32,580 g		5759,90 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 340,9 g, das des lufttrocknen 73,15 g mit 5,503% N und 5,090 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Aufnahme mit der Nahrung	32,6	5760
Ausgabe (Kot)	4,0	372
Resorbiert	28,6	5388
Resorbiert in Prozenten der Aufnahme	87,7	94

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 18.—19. 2. 04	342,0	4,421		
„ 19.—20. 2. 04	286,5	4,222		
„ 20.—21. 2. 04	333,0	4,350		
„ 21.—22. 2. 04	315,5	4,240		
„ 22.—23. 2. 04	341,0	4,165		
„ 23.—24. 2. 04	425,0	3,640		
Summa . .	2043,0	25,038	293,41 Cal.	2112,4 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 3,6 g N angesetzt und 5095 Cal. angesetzt resp. verbrannt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 12,6 N und 95 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 11,0 N und 88 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 88% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

12. Februar 1904	13 482,0	
14. „ „	13 513,0	
16. „ „	13 444,0	
18. „ „	13 489,9	Versuchszeit
19. „ „	13 489,4	Versuchszeit
20. „ „	13 355,0	Versuchszeit
21. „ „	13 403,2	Versuchszeit
22. „ „	13 455,6	Versuchszeit
23. „ „	13 391,6	Versuchszeit
24. „ „	13 402,0	Versuchszeit
27. „ „	13 380,0	
1. März „	13 338,0	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 18.—24. 2. 04 beträgt — 87,9 g, das mittlere Gewicht 13 446,0 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 5461,1 g
Verlust mit dem Kote	— 340,9 „
„ „ „ Urin	— 2112,4 „
Bleibt Rest	+ 3007,8 g
Körpergewichtsveränderung während d. Versuchszeit	— 87,9 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 3095,7 g

Kind Nr. 23, Waßenmüller, ist ein zartes, dünnes Mädchen mit lebhaftem Temperament und gutem Appetit. Der Schlaf ist etwas unruhig. Das Alter zur Versuchszeit ist 2 Jahre 9 Monate, das Durchschnittsgewicht 11,786 kg (11,5).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	22,05	—	—	3,96	87,32
2. Semmel	746,20	0,964	7,193	2,566	1914,75
3. Marmelade . . .	120,0	0,066	0,079	1,877	225,24
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett . . .	56,850	—	—	9,3	528,71
5. Butter	56,814	0,138	0,078	8,085	459,34
6. Reis	35,0	0,870	0,305	3,963	138,71
7. Kartoffeln	40,0	0,784	0,314	3,655	146,20
8. Spinat	20,0	3,708	0,742	3,543	70,86
9. Mohrrüben . . .	15,0	0,816	0,122	2,945	44,18
10. Mondamin	10,0	—	—	3,553	35,53
11. Gelbei	48,0	5,092	2,444	7,525	331,20
12. Milch Nr. 2 in ccm	4370,8	0,477	20,849	0,671	2932,81
Summa			42,027 g		7300,02 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 387,7 g, das des lufttrocknen 90,6 g mit 5,743% N und 5,054 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	42,0	7300
Ausgabe (Kot)	5,7	458
Resorbiert	36,3	6842
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	86,4	94

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 18.—19. 2. 04	362,0	4,945		
„ 19.—20. 2. 04	387,5	4,970		
„ 20.—21. 2. 04	486,5	6,098		
„ 21.—22. 2. 04	448,5	5,240		
„ 22.—23. 2. 04	365,5	5,300		
„ 23.—24. 2. 04	328,0	5,305		
Summa . . .	2378,0	31,858	348,97 Cal.	2464,9 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 4,4 g N angesetzt und 6493 Cal. angesetzt resp. verbrannt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 12,1 N und 95 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 10,5 N und 89 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 89% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum	Gewicht	
12. Februar 1904	11 672,8	
14. „ „	11 567,0	
16. „ „	11 590,0	
18. „ „	11 688,5	Versuchszeit
19. „ „	11 722,7	Versuchszeit
20. „ „	11 701,7	Versuchszeit
21. „ „	11 830,5	Versuchszeit
22. „ „	11 806,7	Versuchszeit
23. „ „	11 814,0	Versuchszeit
24. „ „	11 883,5	Versuchszeit
27. „ „	11 754,0	
1. März „	11 510,0	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 18.—24. 2. 04 beträgt + 195,0 g, das mittlere Gewicht 11 786,0 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 6394,3 g
Verlust mit dem Kote	— 387,7 „
„ „ „ Urin	— 2464,9 „
Bleibt Rest	+ 3541,7 g
Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit	+ 195,0 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 3346,7 g

5. Versuchsreihe (9 Kinder).

Vorversuch vom 15.—20. März 1904 (6 Tage).

Hauptversuch vom 21.—27. März 1904 (6 Tage).

Kind Nr. 24, Fedtke, ist ein mäßig dicker, sehr lebhafter Knabe mit gutem Appetit. Der Schlaf war etwas unruhig. Das Alter zur Versuchszeit ist 5 Jahre 2 Monate, das Durchschnittsgewicht 16,186 kg (17,4 kg).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	14,61	—	—	3,96	57,86
2. Semmel	996,60	1,009	10,056	2,518	2509,44
3. Marmelade	80,0	0,066	0,053	1,877	150,16
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett	56,850	—	—	9,3	528,71
5. Butter	81,899	0,138	0,113	8,085	662,15
6. Reis	25,0	0,870	0,218	3,963	99,08
7. Kartoffeln	40,0	0,784	0,314	3,655	146,20
8. Spinat	20,0	3,708	0,742	3,543	70,86
9. Mohrrüben	25,0	0,816	0,204	2,945	73,63
10. Mondamin	10,0	—	—	3,553	35,53
11. Gelbei	43,0	5,092	2,190	7,525	323,58
12. Milch Nr. 2 in ccm	5383,9	0,477	25,681	0,671	3612,60
Summa			49,472 g		8624,97 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 499,3 g, das des lufttrocknen 104,34 g mit 6,081% N und 5,221 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	49,5	8625
Ausgabe (Kot)	6,3	545
Resorbiert	43,2	8080
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	87,3	94

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 21.—22. 3. 04	409,5	7,030		
„ 22.—23. 3. 04	490,5	7,313		
„ 23.—24. 3. 04	438,5	7,070		
„ 24.—25. 3. 04	403,5	6,730		
„ 25.—26. 3. 04	421,5	7,105		
„ 26.—27. 3. 04	431,5	8,115		
Summa . . .	2595,0	43,363	415,48 Cal.	2680,6 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

— 0,2 g N abgegeben und 7665 Cal. angesetzt resp. verbrannt,
d. i. in Prozent des Resorbierten: (N fällt aus) und 95 Cal.
und in Prozent des Eingeführten: (N fällt aus) und 89 Cal.

Von dem Brennwert der Nahrung sind mithin dem Körper 89% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum	Gewicht	
9. März 1904	16 530,0	
15. „ „	16 566,0	
17. „ „	16 300,0	
19. „ „	16 234,0	
21. „ „	16 142,5	Versuchszeit
22. „ „	16 320,0	Versuchszeit
23. „ „	16 281,6	Versuchszeit
24. „ „	16 411,0	Versuchszeit
25. „ „	16 270,3	Versuchszeit
26. „ „	16 206,5	Versuchszeit
27. „ „	16 230,2	Versuchszeit
29. „ „	16 208,0	
31. „ „	16 145,0	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 21.—27. 3. 04 beträgt + 87,7 g, das mittlere Gewicht 16 186,4 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 7992,0 g
Verlust mit dem Kote	— 499,3 „
„ „ „ Urin	— 2680,6 „
Bleibt Rest	+ 4812,1 g
Gewichtsveränderung während der Versuchszeit .	+ 87,7 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 4724,4 g

Kind Nr. 25, Simon, ist ein mäßig dicker, ruhiger Knabe mit gutem Appetit und Schlaf. Das Alter zur Versuchszeit ist 4 Jahre 7 Monate, das Durchschnittsgewicht 12,708 kg (16,3 kg).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

	Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1.	Zucker	27,62	—	—	3,96	109,38
2.	Semmel	986,30	1,009	9,952	2,518	2483,50
3.	Marmelade . . .	80,0	0,066	0,053	1,877	150,16
4.	Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
	reines Fett . . .	56,850	—	—	9,3	528,71
5.	Butter	75,954	0,138	0,105	8,085	614,09
6.	Reis	25,0	0,870	0,218	3,963	99,08
7.	Kartoffeln	40,0	0,784	0,314	3,655	146,20
8.	Spinat	20,0	3,708	0,742	3,543	70,86
9.	Mohrrüben . . .	25,0	0,816	0,204	2,945	73,63
10.	Mondamin	10,0	—	—	3,553	35,53
11.	Gelbei	43,0	5,092	2,190	7,525	323,58
12.	Milch Nr. 2 in ccm	5098,6	0,477	24,320	0,671	3421,16
	Summa			47,999 g		8411,05 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 486,9 g, das des lufttrocknen 81,74 g mit 6,475% N und 4,851 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	48,0	8411
Ausgabe (Kot)	5,6	397
Resorbiert	42,4	8014
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	88,3	95

Die Zusammensetzung des Urins ist die folgende:

	Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom	21.—22. 3. 04	400,5	5,746		
„	22.—23. 3. 04	429,5	6,750		
„	23.—24. 3. 04	412,5	6,390		
„	24.—25. 3. 04	427,5	6,165		
„	25.—26. 3. 04	474,5	7,133		
„	26.—27. 3. 04	480,5	7,335		
	Summa . . .	2625,0	39,519	391,05 Cal.	2706,3 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 2,9 g N angesetzt und 7623 Cal. angesetzt resp. verbrannt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 6,8 N und 95 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 6,0 N und 91 Cal.

Von dem Brennwert der Nahrung sind mithin dem Körper 91% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

15. März 1904	12 635,0
17. „ „	12 522,0
19. „ „	12 521,0
21. „ „	12 529,0 Versuchszeit
23. „ „	12 811,0 Versuchszeit
24. „ „	12 791,3 Versuchszeit
25. „ „	12 888,9 Versuchszeit
26. „ „	12 914,4 Versuchszeit
27. „ „	12 887,5 Versuchszeit
29. „ „	12 891,0
31. „ „	12 897,0

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 21.—27. 3. 04 beträgt + 358,5 g, das mittlere Gewicht 12 708,3 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 7503,8 g
Verlust mit dem Kote	— 486,9 „
„ „ „ Urin	— 2706,3 „
Bleibt Rest	+ 4310,6 g
Gewichtsveränderung während der Versuchszeit .	+ 358,5 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 3952,1 g

Kind Nr. 26, Krüger, ist ein dicker, lebhafter Knabe mit gutem Appetit und ruhigem Schlaf. Das Kind ist zur Versuchszeit 2 Jahre 7 Monate alt und wiegt im Durchschnitt 11,853 kg (11,9 kg).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	19,71	—	—	3,96	78,05
2. Semmel	752,2	1,009	7,590	2,518	1894,04
3. Marmelade . . .	60,0	0,066	0,040	1,877	112,62
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	34,687	14,081	4,884	5,051	175,20
reines Fett . . .	28,425	—	—	9,3	264,35
5. Butter	72,05	0,138	0,099	8,085	582,52
6. Reis	20,0	0,870	0,174	3,963	79,26
7. Kartoffeln	30,0	0,784	0,235	3,655	109,65
8. Spinat	14,0	3,708	0,519	3,543	49,60
9. Mohrrüben . . .	15,0	0,816	0,122	2,945	44,18
10. Mondamin	7,0	—	—	3,553	24,87
11. Gelbei	43,0	5,092	2,190	7,525	323,58
12. Milch Nr. 2 in ccm	5116,3	0,477	24,405	0,671	3433,04
Summa			40,258 g		7170,96 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 751,0 g, das des lufttrocknen 115,93 g mit 5,646% N und 5,47 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	40,3	7171
Ausgabe (Kot)	6,5	634
Resorbiert	33,8	6537
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	83,9	91

Die Zusammensetzung des Urins ist:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 21.—22. 3. 04	336,0	5,348		
„ 22.—23. 3. 04	331,5	5,415		
„ 23.—24. 3. 04	299,5	4,888		
„ 24.—25. 3. 04	299,5	5,025		
„ 25.—26. 3. 04	332,5	4,843		
„ 26.—27. 3. 04	357,5	5,750		
Summa . . .	1956,5	31,269	344,5 Cal.	2033,5 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 2,5 g N angesetzt und 6193 Cal. angesetzt resp. verbrannt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 7,4 N und 95 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 6,2 N und 86 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 86% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum	Gewicht	
9. März 1904	11 682,0	
15. „ „	11 855,0	
17. „ „	11 703,0	
19. „ „	11 710,0	
21. „ „	11 722,2	Versuchszeit
22. „ „	11 764,2	Versuchszeit
23. „ „	11 835,5	Versuchszeit
24. „ „	11 817,9	Versuchszeit
25. „ „	11 978,0	Versuchszeit
26. „ „	12 038,0	Versuchszeit
27. „ „	11 982,7	Versuchszeit
29. „ „	11 824,0	
31. „ „	11 710,0	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 21.—27. 3. 04 beträgt + 260,5 g, das mittlere Gewicht 11 852,5 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 6993,4 g
Verlust mit dem Kote	— 751,0 „
„ „ „ Urin	— 2033,5 „
Bleibt Rest	+ 4208,9 g
Gewichtsveränderung während der Versuchszeit	+ 260,5 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 3948,4 g

Kind Nr. 27, Eibert, ist ein zartes, dünnes Mädchen mit lebhaftem Temperament. Das Kind ißt mit wenig Appetit und schläft nachts sehr unruhig. Es ist 3 Jahre 2 Monate alt und wiegt im Durchschnitt 9,653 kg (10,5 kg).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	24,43	—	—	3,96	96,74
2. Semmel	536,50	1,009	5,413	2,518	1350,91
3. Marmelade	60,0	0,066	0,040	1,877	112,62
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	35,1584	14,081	4,951	5,051	177,59
reines Fett	28,425	—	—	9,3	264,35
5. Butter	35,385	0,138	0,049	8,085	286,09
6. Reis	15,0	0,870	0,131	3,963	59,45
7. Kartoffeln	20,0	0,784	0,157	3,655	73,10
8. Spinat	12,0	3,708	0,445	3,543	42,52
9. Mohrrüben	15,0	0,816	0,122	2,945	44,18
10. Mondamin	7,0	—	—	3,553	24,87
11. Gelbei	28,0	5,092	1,426	7,525	210,70
12. Milch Nr. 2 in ccm	3913,60	0,477	18,668	0,671	2626,03
Summa			31,402 g		5369,15 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 437,2 g, das des lufttrocknen 70,42 g mit 5,378% N und 4,967 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	31,4	5369
Ausgabe (Kot)	3,8	350
Resorbiert	27,6	5019
Resorbiert in Prozent der Einnahme	87,9	93

Die Zusammensetzung des Urins ist:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichts-verlust durch den Urin
Vom 21.—22. 3. 04	258,0	3,930		
„ 22.—23. 3. 04	393,0	5,625		
„ 23.—24. 3. 04	312,5	4,295		
„ 24.—25. 3. 04	327,0	4,820		
„ 25.—26. 3. 04	301,5	4,710		
„ 26.—27. 3. 04	283,5	4,600		
Summa . . .	1875,5	27,980	311,9 Cal.	1934,0 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

— 0,4 g N abgegeben und 4707 Cal. angesetzt resp. verbrannt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: (N fällt aus) und 94 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: (N fällt aus) und 88 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 88% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum	Gewicht	
9. März 1904	9760,0	
15. „ „	9555,0	
17. „ „	9824,0	
19. „ „	9756,0	
21. „ „	9665,2	Versuchszeit
22. „ „	9802,4	Versuchszeit
23. „ „	9753,7	Versuchszeit
24. „ „	9728,2	Versuchszeit
25. „ „	9780,0	Versuchszeit
26. „ „	9803,2	Versuchszeit
27. „ „	9641,2	Versuchszeit
29. „ „	9710,0	
31. „ „	9757,0	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit beträgt — 24,0 g, das mittlere Gewicht 9653,2 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 5568,5 g
Verlust mit dem Kote	— 437,2 „
„ „ „ Urin	— 1934,0 „
Bleibt Rest	+ 3197,3 g
Gewichtsveränderung während des Versuches . .	— 24,0 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 3221,3 g

Kind Nr. 28, Wagner, ist ein dünnes Mädchen mit sehr lebhaftem Temperament. Der Appetit ist mäßig, der Schlaf etwas unruhig. Das Kind wiegt im Mittel der Versuchszeit 14,289 kg (17,8 kg) und ist 6 Jahre und 1 Monat alt.

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

	Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1.	Zucker	17,85	—	—	3,96	70,88
2.	Semmel	1017,80	1,009	10,270	2,518	2562,82
3.	Marmelade . . .	80,0	0,066	0,053	1,877	150,16
4.	Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
	reines Fett . . .	56,850	—	—	9,3	528,71
5.	Butter	76,132	0,138	0,105	8,085	615,53
6.	Reis	25,0	0,870	0,218	3,963	99,08
7.	Kartoffeln	40,0	0,784	0,314	3,655	146,20
8.	Spinat	17,0	3,708	0,630	3,543	60,23
9.	Mohrrüben . . .	25,0	0,816	0,204	2,945	73,63
10.	Mondamin . . .	10,0	—	—	3,553	35,53
11.	Gelbei	43,0	5,092	2,190	7,525	323,58
12.	Milch Nr. 2 in ccm	4947,40	0,477	23,599	0,671	3319,71
	Summa			47,484 g		8341,03 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 324,2 g, das des lufttrockncn 73,33 g mit 5,336% N und 5,033 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	47,5	8341
Ausgabe (Kot)	3,9	369
Resorbiert	43,6	7972
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	91,8	96

Die Zusammensetzung des Urins ist:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 21.—22. 3. 04	448,5	5,025		
„ 22.—23. 3. 04	459,5	7,853		
„ 23.—24. 3. 04	419,5	7,210		
„ 24.—25. 3. 04	438,0	6,755		
„ 25.—26. 3. 04	437,5	7,523		
„ 26.—27. 3. 04	430,5	7,973		
Summa . . .	2633,5	42,339	418,8 Cal.	2766,9 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 1,3 g N angesetzt und 7553 Cal. angesetzt resp. verbrannt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 3,0 N und 95 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 2,7 N und 89 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 89% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

15. März 1904	14 450,0	
17. „ „	14 430,0	
19. „ „	14 290,0	
21. „ „	14 200,4	Versuchszeit
22. „ „	14 361,5	
23. „ „	14 407,9	
24. „ „	14 564,5	
25. „ „	14 447,3	
26. „ „	14 538,5	
27. „ „	14 377,9	
29. „ „	14 576,0	
31. „ „	14 709,0	

Die Gewichtsdifferenz während des Versuches vom 21.—27. 3. 04 ist + 177,5 g, das mittlere Gewicht 14 289,2 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 7506,1 g
Verlust mit dem Kote	— 324,2 „
„ „ „ Urin	— 2766,9 „
Bleibt Rest	+ 4415,0 g
Gewichtsdifferenz während des Versuches	+ 177,5 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 4237,5 g

Kind Nr. 29, Neumann, ist ein ziemlich gut genährtes Mädchen mit lebhaftem Temperament und gutem Schlaf. Der Appetit ist nur mäßig zu nennen. Das Kind ist 4 Jahre 5 Monate alt und wiegt im Mittel 14,684 kg (14,8 kg).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	19,77	—	—	3,96	78,29
2. Semmel	926,50	1,009	9,348	2,518	2332,95
3. Marmelade	80,0	0,066	0,053	1,877	150,16
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	70,3168	14,081	9,901	5,051	355,17
reines Fett	56,850	—	—	9,3	528,71
5. Butter	74,097	0,138	0,102	8,085	599,07
6. Reis	25,0	0,870	0,218	3,963	99,08
7. Kartoffeln	40,0	0,784	0,314	3,655	146,20
8. Spinat	17,0	3,708	0,630	3,543	60,23
9. Mohrrüben	25,0	0,816	0,204	2,945	73,63
10. Gelbei	43,0	5,092	2,190	7,525	323,58
11. Mondamin	10,0	—	—	3,553	35,53
12. Milch Nr. 2 in ccm	4998,3	0,477	23,842	0,671	3353,86
Summa			46,802 g		8136,46 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 599,0 g, das des lufttrocknen 98,38 g mit 5,718% N und 5,418 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	46,8	8136
Ausgabe (Kot)	5,6	533
Resorbiert	41,2	7603
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	88,0	93

Die Zusammensetzung des Urins ist:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 21.—22. 3. 04	416,5	5,120		
„ 22.—23. 3. 04	360,5	5,265		
„ 23.—24. 3. 04	451,5	5,880		
„ 24.—25. 3. 04	418,5	5,445		
„ 25.—26. 3. 04	430,5	6,181		
„ 26.—27. 3. 04	504,5	6,870		
Summa . . .	2582,0	34,761	354,76 Cal.	2662,3 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 6,4 g N angesetzt und 7248 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 15,5 N und 95 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 13,7 N und 89 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 89% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum	Gewicht	
15. März 1904	14 435,0	
17. „ „	14 482,0	
19. „ „	14 522,0	
21. „ „	14 547,3	Versuchszeit
22. „ „	14 600,9	
23. „ „	14 733,5	
24. „ „	14 830,8	
25. „ „	14 815,5	
26. „ „	14 929,5	
27. „ „	14 820,5	
29. „ „	14 732,0	
31. „ „	14 680,0	

Die Gewichtsdifferenz während des Versuches vom 21.—27. 3. 04 beträgt + 273,2 g, das mittlere Gewicht 14 683,9 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 7304,4 g
Verlust mit dem Kote	— 599,0 „
„ „ „ Urin	— 2662,3 „
Bleibt Rest	+ 4043,1 g
Gewichtsveränderung während des Versuches	+ 273,2 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 3769,9 g

Kind Nr. 30, Landwehr, ist ein dickes Mädchen mit außerordentlich lebhaftem Temperament. Der Appetit ist gut, der Schlaf ruhig. Das Kind ist zur Versuchszeit 3 Jahre 3 Monate alt und wiegt im Mittel 12,517 kg (12,7 kg).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt u. Energiewert sind:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	18,42	—	—	3,96	72,94
2. Semmel	855,40	1,009	8,631	2,518	2153,90
3. Marmelade	80,0	0,066	0,053	1,877	150,16
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	35,1584	14,081	4,951	5,051	177,59
reines Fett	28,425	—	—	9,3	264,35
5. Butter	71,653	0,138	0,099	8,085	579,31
6. Reis	20,0	0,870	0,174	3,963	79,26
7. Kartoffeln	30,0	0,784	0,235	3,655	109,65
8. Spinat	14,0	3,708	0,519	3,543	49,60
9. Mohrrüben	15,0	0,816	0,122	2,945	44,18
10. Gelbei	43,0	5,092	2,190	7,525	323,58
11. Mondamin	7,0	—	—	3,553	24,87
12. Milch Nr. 2 in ccm	4782,20	0,477	22,811	0,671	3208,86
Summa			39,785 g		7238,25 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 372,1 g, das des lufttrocknen 93,8 g mit 5,67% N und 5,092 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	39,8	7238
Ausgabe (Kot)	5,3	478
Resorbiert	34,5	6760
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	86,7	93

Die Zusammensetzung des Urins ist:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 21.—22. 3. 04	312,5	4,996		
„ 22.—23. 3. 04	347,0	5,750		
„ 23.—24. 3. 04	285,0	4,890		
„ 24.—25. 3. 04	397,0	5,181		
„ 25.—26. 3. 04	325,0	5,530		
„ 26.—27. 3. 04	333,0	6,065		
Summa	1999,5	32,412	347,93 Cal.	2076,1 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte des Ansatzes:

+ 2,1 g N angesetzt und 6412 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 6,1 N und 95 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 5,3 N und 89 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 89% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum	Gewicht	
9. März 1904	12 250,0	
15. „ „	12 365,0	
17. „ „	12 405,0	
19. „ „	12 408,0	
21. „ „	12 409,5	Versuchszeit
22. „ „	12 438,0	Versuchszeit
23. „ „	12 552,2	Versuchszeit
24. „ „	12 554,0	Versuchszeit
25. „ „	12 569,0	Versuchszeit
26. „ „	12 702,2	Versuchszeit
27. „ „	12 624,4	Versuchszeit
29. „ „	12 623,0	
31. „ „	12 625,0	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 21.—27. 3. 04 beträgt + 214,9 g, das mittlere Gewicht 12 517,0 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 6616,1 g
Verlust mit dem Kote	— 372,1 „
„ „ „ Urin	— 2076,1 „
Bleibt Rest	+ 4167,9 g
Gewichtsdifferenz während des Versuches	+ 214,9 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 3953,0 g

Kind Nr. 31, Schröder, ist ein leidlich gut genährtes Mädchen mit ziemlich lebhaftem Temperament. Der Appetit ist nicht besonders gut, der Schlaf etwas unruhig. Das Kind ist zur Versuchszeit 3 Jahre 9 Monate alt und wiegt im Mittel 13,771 kg (13,7 kg).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	52,33	—	—	3,96	207,23
2. Semmel	836,10	1,009	8,436	2,518	2105,30
3. Marmelade . . .	20,0	0,066	0,013	1,877	37,54
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	35,1584	14,081	4,951	5,051	177,59
reines Fett . . .	28,425	—	—	9,3	264,35

5. Butter	45,982	0,138	0,083	8,085	371,76
6. Reis	20,0	0,870	0,174	3,963	79,26
7. Kartoffeln	30,0	0,784	0,235	3,655	109,65
8. Spinat	14,0	3,708	0,519	3,543	49,60
9. Mohrrüben . . .	15,0	0,816	0,122	2,945	44,18
10. Mondamin	15,0	—	—	3,553	53,30
11. Gelbei	21,0	5,092	1,069	7,525	158,03
12. Milch Nr. 2 in ccm	4293,2	0,477	20,479	0,671	2880,74
Summa			36,061 g		6538,53 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 687,8 g, das des lufttrocknen 96,98 g mit 5,845% N und 4,718 Cal. pro 1 g.

Danach sind die absoluten Werte des Umsatzes:

	N in g	Calorien
Einnahme	36,1	6539
Ausgabe (Kot)	5,7	438
Resorbiert	30,4	6101
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	84,2	93

Die Zusammensetzung des Urins ist:

Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom 21.—22. 3. 04	363,0	5,828		
„ 22.—23. 3. 04	359,5	5,798		
„ 23.—24. 3. 04	300,0	4,875		
„ 24.—25. 3. 04	320,0	4,565		
„ 25.—26. 3. 04	451,0	4,718		
„ 26.—27. 3. 04	383,0	5,502		
Summa . . .	2176,5	31,286	317,49 Cal.	2242,9 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte für den Ansatz:

— 0,9 g N abgegeben und 5784 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozent des Resorbierten: (N fällt aus) und 95 Cal.
und in Prozent des Eingeführten: (N fällt aus) und 88 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 88% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum	Gewicht	
15. März 1904	14 045,0	
17. „ „	13 960,0	
19. „ „	13 630,0	
21. „ „	13 699,7	Versuchszeit
22. „ „	13 876,8	Versuchszeit
23. „ „	13 986,2	Versuchszeit
24. „ „	13 920,7	Versuchszeit
25. „ „	13 962,2	Versuchszeit
26. „ „	14 039,0	Versuchszeit
27. „ „	13 842,7	Versuchszeit

29. März 1904	13 850,0
31. „ „	13 855,0

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 21.—27. 3. 04 beträgt + 143,0 g, das mittlere Gewicht 13 771,2 g.

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 6567,6 g
Verlust mit dem Kote	— 687,8 „
„ „ „ Urin	— 2242,9 „
Bleibt Rest	+ 3636,9 g
Gewichtsdifferenz während des Versuches	+ 143,0 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 3493,9 g

Kind Nr. 32, Maczyski, ist ein dickes, schlaffes Mädchen mit lebhaftem Temperament. Der Appetit ist gut zu nennen, der Schlaf ist ruhig. Das Kind ist zur Versuchszeit 4 Jahre 2 Monate alt und wiegt im Mittel 12 006 kg (14,5 kg).

Die aufgenommenen Nahrungsmengen mit N-Gehalt und Energiewert sind:

Nahrungsmittel	Menge in g	N-Gehalt %	N-Gehalt absolut	Energiewert pro g in Cal.	Energiewert Summa
1. Zucker	14,06	—	—	3,96	55,68
2. Semmel	741,7	1,009	7,484	2,518	1867,60
3. Marmelade	80,0	0,066	0,053	1,877	150,16
4. Konserve, Fleisch (wasser- u. fettfrei)	35,1584	14,081	4,951	5,051	177,59
reines Fett	28,425	—	—	9,3	264,35
5. Butter	59,15	0,138	0,082	8,085	478,23
6. Reis	20,0	0,870	0,174	3,963	79,26
7. Kartoffeln	30,0	0,784	0,235	3,655	109,65
8. Spinat	14,0	3,708	0,519	3,543	49,60
9. Mohrrüben	15,0	0,816	0,122	2,945	44,18
10. Mondamin	7,0	—	—	3,553	24,87
11. Gelbei	43,0	5,092	2,190	7,525	323,58
12. Milch Nr. 2 in ccm	4748,4	0,477	22,650	0,671	3186,18
Summa			38,460 g		6810,93 Cal.

Das Gewicht des frischen Gesamtkotes beträgt 424,1 g, das des lufttrocknen 85,14 g mit 6,22% N und 4,936 Cal. pro 1 g.

Danach sind die Werte für den Umsatz:

	N in g	Calorien
Einnahme	38,5	6811
Ausgabe (Kot)	5,3	420
Resorbiert	33,2	6391
Resorbiert in Prozenten der Einnahme	86,2	94

Die Zusammensetzung des Urins ist:

	Datum	Menge in ccm	N in g	Der cal. Wert des Gesamturins	Gewichtsverlust durch den Urin
Vom	21.—22. 3. 04	309,5	5,135		
„	22.—23. 3. 04	363,0	5,615		
„	23.—24. 3. 04	330,0	5,111		
„	24.—25. 3. 04	296,0	4,625		
„	25.—26. 3. 04	419,5	5,625		
„	26.—27. 3. 04	441,0	5,676		
	Summa . . .	2159,0	31,787	312,10 Cal.	2224,3 g

Aus der Differenz der resorbierten und der im Urin ausgeschiedenen Mengen ergeben sich folgende Werte für den Ansatz:

+ 1,4 g N angesetzt und 6079 Cal. verbrannt resp. angesetzt,
d. i. in Prozenten des Resorbierten: 4,2 N und 95 Cal.
und in Prozenten des Eingeführten: 3,6 N und 89 Cal.

Von dem Brennwerte der Nahrung sind mithin dem Körper 89% zugute gekommen.

Die Gewichte an den einzelnen Versuchstagen sind in Gramm:

Datum			Gewicht	
9.	März	1904	12 590,0	
15.	„	„	11 864,0	
17.	„	„	11 935,0	
19.	„	„	11 823,0	
21.	„	„	11 786,0	Versuchszeit
22.	„	„	11 984,0	Versuchszeit
23.	„	„	12 006,7	Versuchszeit
24.	„	„	12 019,8	Versuchszeit
25.	„	„	12 068,2	Versuchszeit
26.	„	„	12 150,5	Versuchszeit
27.	„	„	12 226,5	Versuchszeit
29.	„	„	12 189,0	
31.	„	„	12 118,0	

Die Gewichtsdifferenz während der Versuchszeit vom 21.—27. 3. 04 beträgt + 440,5 g, das mittlere Gewicht 12 006,3 g[1]).

[1]) Die Gewichtszunahme dieses Kindes ist eine auffallende. Es ise auch bemerkenswert, daß sowohl das Anfangsgewicht, als auch das Gewicht am Schlusse des Versuches aus der Reihe der übrigen herausfällt. Nehmt ich zum Ausgleich je 3 Gewichte am Beginn und am Ende des Versuches, berechne die Mittelwerte und aus diesen dann die Gewichtszunahme und das Mittelgewicht, so ergibt sich + 324,4 g für die erstere und 12026,5 g für das letztere. Diese neuen Werte kommen den tatsächlichen Gewichtsverhältnissen dieses Kindes näher; ich habe dieselben später teilweise berücksichtigt.

Einer späteren Überlegung Folge leistend, führe ich hier noch die

Die Werte für die Berechnung der Perspiratio insensibilis sind:

Aufnahme mit der Nahrung	+ 6596,7 g
Verlust mit dem Kote	— 424,1 „
„ „ „ Urin	— 2224,3 „
Bleibt Rest	+ 3948,3 g
Gewichtsdifferenz während des Versuches	+ 440,5 „
Rest für die Perspiratio insensibilis	+ 3507,8 g

Gesamtnahrungsaufnahmen während der Vorversuche auf, soweit sie noch nicht in den Versuchsprotokollen enthalten sind. Das in den Vorversuchen genossene Fleisch war mageres Rindfleisch.

Gesamtnahrungsaufnahmen während der Vorversuche in Gramm:

2. Versuchsreihe.

Vorversuch vom 30. November bis 6. Dezember 1903.

	Kind Tinz Nr. 7	Kind Harndt Nr. 8	Kind Pioch Nr. 9
1. Zucker	82	82	88
2. Semmel	795	789	737
3. Marmelade	140	140	140
4. Fleisch	333	333	333
5. Butter	280	275	273
6. Kartoffeln	40	40	45
7. Mohrrüben	31	31	31
8. Schoten	70	70	75
9. Spinat	19	19	19
10. Mondamin	30	30	30
11. Reis	50	50	50
12. Gelbei	40	40	40
13. Milch	5800	5633	5784

	Kind Hecke Nr. 10	Kind Lückmann Nr. 11
1. Zucker	69	84
2. Semmel	524	553
3. Marmelade	140	140
4. Fleisch	250	250
5. Butter	208	215
6. Kartoffeln	35	40
7. Mohrrüben	20	22
8. Spinat	13	14
9. Schoten	55	60
10. Mondamin	10	10
11. Reis	40	40
12. Gelbei	32	32
13. Milch	4602	4346

Fortsetzung der Fußnote von Seite 233 und 234.

3. Versuchsreihe.

Vorversuch vom 18.—25. Januar 1904.

	Kind Winkler Nr. 12	Kind Malitzki Nr. 13	Kind Päschel Nr. 14	Kind Moritz Nr. 15	Kind Strauß Nr. 16	Kind Struß Nr. 17
1. Zucker	73	67	79	61	69	64
2. Semmel	904	898	881	741	876	821
3. Marmelade . . .	120	120	120	120	120	120
4. Fleisch	350	350	350	325	350	350
5. Butter	226	226	221	209	226	210
6. Kartoffeln . . .	40	40	40	35	40	35
7. Mohrrüben . . .	24	24	22	22	24	22
8. Spinat.	8	8	8	6	8	6
9. Schoten	80	80	80	80	80	80
10. Mondamin . . .	20	20	17	7	20	7
11. Reis.	55	55	55	50	55	50
12. Gelbei	20	20	20	15	20	15
13. Milch	6125	6009	5586	5364	6168	5567

4. Versuchsreihe.

Vorversuch vom 12.—17. Februar 1904.

	Kind Cimanowski Nr. 18	Kind Rodewald Nr. 19	Kind Lose Nr. 20	Kind Radüntz Nr. 21	Kind Heise Nr. 22	Kind Waßenmüller Nr. 23
1. Zucker	10	18	68	80	18	10
2. Semmel	991	558	440	412	553	851
3. Marmelade . . .	80	80	80	80	80	60
4. Fleisch	275	150	150	150	150	275
5. Butter	149	92	82	70	87	132
6. Kartoffeln . . .	40	30	30	30	30	40
7. Mohrrüben . . .	20	10	10	10	10	20
8. Spinat	10	7	7	14	7	10
9. Schoten	30	20	20	—	20	30
10. Mondamin . . .	12	10	10	10	10	12
11. Reis	40	30	30	30	30	40
12. Gelbei	32	32	32	40	32	32
13. Milch	3542	3920	3466	4128	4640	4575

5. Versuchsreihe.

Vorversuch vom 15.—20. März 1904.

	Kind Fedtke Nr. 24	Kind Simon Nr. 25	Kind Krüger Nr. 26	Kind Eibert Nr. 27	Kind Wagner Nr. 28
1. Zucker	15	15	20	15	15
2. Semmel	1005	852	613	454	977
3. Fleisch	300	300	150	150	300
4. Butter	151	149	109	85	154

5. Kartoffeln . . .	40	40	30	20	40
6. Mohrrüben . . .	25	15	15	15	25
7. Spinat	10	7	7	7	10
8. Schoten	30	20	20	10	30
9. Mondamin . . .	10	10	7	7	10
10. Reis	25	20	20	15	25
11. Gelbei	40	40	40	34	40
12. Milch	4066	4327	3936	4167	3953

	Kind Neumann Nr. 29	Kind Landwehr Nr. 30	Kind Schröder Nr. 31	Kind Maczyski Nr. 32
1. Zucker	15	15	15	15
2. Semmel	750	712	691	671
3. Fleisch	150	150	150	150
4. Butter	119	110	98	110
5. Kartoffeln . . .	20	30	30	30
6. Mohrrüben . . .	25	15	15	15
7. Spinat	10	7	7	7
8. Schoten	30	20	15	20
9. Mondamin . . .	10	7	7	7
10. Reis	25	20	20	20
11. Gelbei	40	40	40	40
12. Milch	4250	4267	4010	3998

Am Schlusse der Vorversuche kommt noch für jedes Kind die Abgrenzungs-Mahlzeit in Form von je „25 g getrockneten Heidelbeeren + 25 g Zucker“ hinzu.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Bei der großen Zahl von Stoffwechselversuchen, deren einzelne Ergebnisse in dem vorhergehenden Kapitel ausführlich niedergelegt sind, erscheint es mir notwendig, um eine klare Einsicht in die Verhältnisse gewinnen zu können, Tabellen aufzustellen, welche die Kinder nach verschiedenen Gesichtspunkten sondern und zusammenfassen. An der Hand dieser Tabellen sollen die Versuchsergebnisse dann besprochen und untereinander verglichen werden. Wie eingangs erwähnt, habe ich zu meinen Versuchen nur gesunde Kinder herangezogen, welche im 3.—6. Lebensjahre standen, also eine ziemlich eng begrenzte Altersklasse darstellten. Dem gegenüber zeigten die Kinder untereinander manche Verschiedenheiten, welche, abgesehen von dem Gewicht und Geschlecht, im Körperbau, im Appetit, im Schlaf und im Temperament ihren Ausdruck fanden. Diese körperlichen resp. geistigen Abweichungen der Kinder untereinander geben eine gute Basis ab, besondere Gruppen zu bilden und diese in ihrem

Stoffwechsel gesondert zu betrachten und untereinander zu vergleichen. Es war von vornherein wahrscheinlich, daß diese verschiedenen Eigenschaften sowohl auf die N-Bilanz, wie auf den Kraftwechsel einen Einfluß ausüben würden. Ich habe fernerhin den Versuch gemacht, den „wahren Nährstoffbedarf“ der Kinder festzustellen. Diese Feststellung ist gewiß sehr wichtig und geschieht hier zum ersten Male für diese Altersklasse auf Grund direkter calorimetrischer Bestimmungen. Weitere Tabellen zeigen Berechnungen des N-Stoffwechsels und des Energieverbrauches auf das Körpergewicht resp. die Oberfläche als Einheit. Derartige Berechnungen von Einheitswerten ermöglichen erst den Vergleich von Stoffwechselbilanzen verschiedener Kinder untereinander.

Schließlich habe ich in einem besonderen Kapitel die insensible Perspiration meiner Versuchskinder der 3., 4. und 5. Reihe festgestellt und mit Schätzungswerten die respiratorische Verbrennung und die Wasserverdunstung durch die Lunge berechnet.

Die Tabelle Nr. 1 dient als Grundlage für alle weiteren Betrachtungen und als Ausgangspunkt für alle folgenden, nach verschiedenen Gesichtspunkten gruppierten Tabellen. Sie enthält die absoluten Werte für die von den Kindern während der ganzen Versuchszeit aufgenommenen Mengen an N und Energie, für die Verluste im Kot und im Urin und für die Verdauung resp. Retention. Daraus sind die prozentischen Verhältnisse dieser Werte zueinander, sowie das Nährstoffverhältnis berechnet worden. Die eingehende Erörterung des N-Stoffwechsels und des Energieverbrauches soll mit der Umrechnung der betreffenden Werte auf das Körpergewicht und den Tag als Einheit verbunden werden, da sich dabei sicher ein klareres Bild dieser Verhältnisse ergeben wird. An dieser Stelle will ich zunächst auf das Nährstoffverhältnis näher eingehen. Dieses wurde in der Weise berechnet, daß von der tatsächlich mit der Nahrung aufgenommenen und direkt bestimmten Energiemenge die für den aufgenommenen N, resp. das entsprechende Eiweiß in Abzug gebracht wurde und der Rest auf Fett und Kohlehydrate bezogen wurde. Dieser Berechnung haftet ein kleiner Fehler an, da der Rest noch andere N-freie Stoffe als Fett und Kohlehydrate enthält, wenn auch gewiß nur in so geringer Menge, daß dieser Fehler bei den großen hier in Betracht kommenden Werten das Resultat in keiner Weise beeinflussen kann.

Im Durchschnitt haben meine Versuchskinder von 100 Cal. 13,8 mit Eiweiß und 86,2 mit N-freien Stoffen aufgenommen. Das Nährstoffverhältnis ist demnach 1 : 6,2, oder auf eine Eiweißcalorie wurden 6,2 Calorien als Fett und Kohlehydrate aufgenommen. Das engste Verhältnis ist 1 : 5,7 (bei Kind Eibert, Nr. 27), das weiteste 1 : 7,3 (bei den Kindern Götschkes, Nr. 1 und Wenzel, Nr. 6). Die Kinder zeigten, worauf ich noch später zurückkommen werde, gewisse Differenzen in ihrem allgemeinen Verhalten. Kind Eibert war ein zartes, dünnes Kind mit schlechtem Appetit und unruhigem Schlaf, während die beiden Knaben G. und W. dick und ruhig waren und sich eines gesunden Schlafes erfreuten. Die Werte für die weitaus meisten Kinder liegen dem Durchschnittswerte von 6,2 sehr nahe. Im Vergleich zu den Angaben früherer Autoren ist das Nährstoffverhältnis bei meinen Versuchskindern ein weites, wie es sich aus der nachfolgenden Zusammenstellung ergibt.

Von 100 Calorien sind:

	Eiweiß-calor.	Cal. a. Fett u. Kohle-hydr.	Nährstoffverhältnis Im einzelnen	Nährstoffverhältnis Im Durchschn.
1. Uffelmann:				
a) 2½ Jahre alter Knabe	19,0	79,2	1 : 3,8	1 : 4,1
b) 4¼ Jahre alter Knabe	20,8	81,0	1 : 4,3	
2. Camerer gibt an:				
für das 2.—4. Lebensjahr	18,0	82,0	1 : 4,5	1 : 5,1
nach dem 4. Lebensjahr	17,0	83,0	1 : 5,5	
3. bei Rubner findet sich als Durchschnittswert für das Kindesalter:	16,6	83,4	—	1 : 5
4. Für die Mädchen von Hasse lassen sich folgende Werte berechnen:[1])				
Nr. 1. 2 J. 3 M. alt	15,1	84,9	1 : 5,6	1 : 4,9
Nr. 2. 2 J. 6 M. alt	18,5	81,5	1 : 4,4	
Nr. 3. 3 J. 2 M. alt	19,9	80,1	1 : 4,0	
Nr. 4. 3 J. 6 M. alt	14,9	85,1	1 : 5,7	
Nr. 5. 4 J. 9 M. alt	17,1	82,9	1 : 4,8	
Nr. 6. 5 J. 5 M. alt	18,0	82,0	1 : 4,6	

[1]) Es ist hier zu bemerken, daß Kind 2 und 3 und Kind 5 und 6 dieselben Kinder sind, nur liegen die Versuchszeiten je 6 Monate auseinander.

5. Baginsky gibt an:

für das 2.—4. Lebensj.	19,2	80,8	—	1 : 5,2
für das 4.—9. Lebensj.	19,0	81,0	—	1 : 5,25

6. Herbst's Knaben:

a) 2 J. 3 M. alt	16,5	83,5	1 : 5,1	1 : 4,9
b) 4 J. 4 M. alt	17,9	82,1	1 : 4,7	

7. Meine Versuchskinder:

im Durchschnitt	13,8	86,2	—	1 : 6,2

Gruppiere ich meine Kinder nach dem Lebensalter, so finden sich keine erheblichen Differenzen:

1. 3. Lebensjahr	14,3	85,7	1 : 6,0
2. 4. „	13,7	86,3	1 : 6,3
3. 5. „	13,8	86,2	1 : 6,2
4. 6. „	13,4	86,6	1 : 6,5

Am größten ist noch die Differenz zwischen dem 3. und 6. Lebensjahr, die jüngeren Kinder würden demnach etwas mehr Energie mit Eiweiß aufnehmen als die älteren; wie leicht erklärlich, durch den etwas größeren Konsum an Milch, aber, wie gesagt, die Differenz ist gering.

Nur die weitesten Nährstoffverhältnisse bei einigen Kindern der früheren Autoren kommen den engsten meiner Kinder nahe. Es ist das einmal der Wert von Camerer für Kinder nach dem 4. Lebensjahr und zwar 1 : 5,5, und diejenigen für zwei Mädchen von Hasse, nämlich 1 : 5,6 für das Mädchen Nr. 1 und 1 : 5,7 für das Nr. 4. Die übrigen Werte entfernen sich von den von mir gefundenen immer weiter, um schließlich bei dem 2½ jährigen Knaben von Uffelmann auf das sehr enge Verhältnis von 1 : 3,8 herabzusinken. Die Werte der heute überhaupt bekannten Nährstoffverhältnisse bei Kindern dieser Altersklasse schwanken also zwischen:

1 : 3,8 bei Uffelmanns 2¼ jährigem Knaben und
1 : 7,3 bei zwei meiner Versuchskinder, Götschkes und Wenzel, im Alter von 3 Jahren 1 Monat resp. 4 Jahren 7 Monaten.

Interessant ist es, daß das Nährstoffverhältnis in der Menschenmilch ein noch viel weiteres, nämlich etwa 1 : 16 ist,

obgleich die relative Gewichtsvermehrung im Säuglingsalter eine viel bedeutendere als im späteren Kindesalter ist.

Im Durchschnitt ist das Nährstoffverhältnis meiner Versuchskinder ein um 20% weiteres als das der übrigen Autoren. Wie später gezeigt werden wird, ist die N-Aufnahme meiner Kinder pro Tag und Kilo, als Einheit berechnet, nicht besonders klein, sondern entspricht den älteren Angaben. Das weitere Nährstoffverhältnis bei mir beruht darauf, daß die Fett- und Kohlehydrataufnahme eine relativ hohe ist, was sich aus der großen pro Tag und Kilo berechneten Energieaufnahme ohne weiteres ergiebt. Diese beeinflußt naturgemäß das Nährstoffverhältnis sehr stark in dem Sinne, daß es ein weites wird.

Die N-Verdauung ist im allgemeinen eine gute und ziemlich gleichmäßige, im Durchschnitt sind 86,8% des aufgenommenen N auch verdaut worden. Die Werte von Camerer für die gleiche Altersklasse liegen den meinigen sehr nahe, so gibt er

für Mädchen im 2.—4. Lebensj. eine N-Verdauung von 88%,
für Mädchen im 5.—7. Lebensj. eine N-Verdauung von 86% und
für Knaben im 5.—6. Lebensj. eine N-Verdauung von 82% an.

Trotzdem finden sich bei einer Reihe von Kindern doch gewisse Differenzen in der N-Verdauung vor, welche bei der Gegenüberstellung des Kindes mit der besten und des Kindes mit der schlechtesten N-Verdauung einen erheblichen Grad erreichen. Es hat Kind Nr. 7 (Tinz), 5 Jahre 1 Monat alt, 93% N verdaut und Kind Nr. 5 (Schalich), 5 Jahre 1 Monat alt, 82% N verdaut, d. i. ein Unterschied von 11%.

Zur Aufklärung dieser Differenzen erschien es wichtig, der Herkunft der aufgenommenen N-Stoffe nachzuforschen und zwar, in welchem Verhältnis das Eiweiß animalen und das vegetabilen Ursprungs an dem Gesamteiweißkonsum beteiligt war. Wenn auch der weitaus größere Anteil des Nahrungseiweißes bei Kindern naturgemäß animaler Herkunft (Milch) ist, so konnte doch eine mehr oder weniger große Beteiligung des vegetabilen Eiweißes am Gesamt-N-Konsum die Resorption ungünstig beeinflußt haben. Es ist ja bekannt, daß das vegetabile Eiweiß in der „nicht präparierten" Form, in welcher meine Versuchskinder es mit dem Gemüse und dem Brote aufnahmen, gegenüber dem animalen

schlecht ausgenützt wird; die Einschließung des Eiweißes durch die Cellulosehüllen der pflanzlichen Zellen setzt den Verdauungssäften doch erheblichen Widerstand entgegen.

Es dürfte daher zweckmäßig sein, aus dem Gros der Kinder diejenigen mit relativ schlechter, d. h. unter dem Durchschnitt von 86,8% liegender und die mit relativ guter, d. h. erheblich über den Durchschnitt sich erhebender N-Verdauung auszuwählen, in zwei Gruppen gegenüberzustellen und dann die vegetabile Eiweißzufuhr zu berechnen.

Gruppe 1 mit relativ schlechter N-Verdauung:

Namen		Alter	N-Verdauung in %	%-Anteil d. vegetab. Eiweiß am Gesamt-N der Nahrung
Schalich	Nr. 5	5 J. 1 M.	81,7	33,2
Harndt	Nr. 8	4 J. 3 M.	82,0	21,4
Winkler	Nr. 12	6 J. 2 M.	82,6	27,9
Rahr	Nr. 2	5 J. 11 M.	83,1	29,8
Cimanowski	Nr. 18	5 J. 9 M.	83,2	24,1
Lose	Nr. 20	2 J. 2 M.	83,5	18,9
Krüger	Nr. 26	2 J. 7 M.	83,9	21,6
Götschkes	Nr. 1	3 J. 1 M.	83,9	29,1
		Durchschnitt:	83,0	25,8

Gruppe 2 mit relativ guter N-Verdauung:

Namen		Alter	N-Verdauung in %	%-Anteil d. vegetab. Eiweiß am Gesamt-N der Nahrung
Hecke	Nr. 10	3 J. 0 M.	89,1	17,9
Lieberknecht	Nr. 4	5 J. 7 M.	90,1	25,1
Päschel	Nr. 14	3 J. 3 M.	90,5	23,9
Struß	Nr. 17	3 J. 7 M.	90,6	24,6
Pioch	Nr. 9	6 J. 0 M.	91,1	22,3
Wagner	Nr. 28	6 J. 1 M.	91,8	24,6
Tinz	Nr. 7	5 J. 1 M.	93,0	22,8
		Durchschnitt:	90,9	23,0

Vergleicht man den vegetabilen Anteil an der Gesamteiweißaufnahme der beiden Gruppen untereinander, so ergibt sich das Resultat, daß im Durchschnitt die Kinder mit schlechter N-Verdauung etwas mehr vegetabiles Eiweiß aufgenommen haben als

diejenigen mit guter; aber die Differenz ist gering, und es erscheint mir nicht angängig, aus diesem Ergebnis einen kausalen Zusammenhang herzuleiten. Greift man allerdings die beiden Kinder Schalich und Tinz mit der schlechtesten und besten N-Verdauung heraus, so findet sich hier ein beträchtlicher Unterschied.

Kind Schalich hat 81,7% N verdaut bei 33,2% Nahrungs-N vegetabiler Herkunft,

Kind Tinz hat 93,0% N verdaut bei 22,8% Nahrungs-N vegetabiler Herkunft.

Bei einer so großen Differenz ist es wahrscheinlich, daß die starke Aufnahme von vegetabilem Eiweiß die N-Verdauung ungünstig beeinflußt hat. Für die übrigen Kinder sind aber, wie gesagt, die Unterschiede zu unbedeutend, um aus ihnen die Abweichungen in der N-Verdauung zu erklären. Das Übergewicht an animalem Eiweiß in der Nahrung ist wohl zu groß, als daß das Pflanzeneiweiß mit seiner ja zweifellos geringeren Verdaulichkeit (in der von mir gereichten Form) wirksam in Erscheinung treten könnte.

Weiterhin erschien es mir notwendig, zu berechnen, ob das Alter meiner Versuchskinder einen Einfluß auf die N-Verdauung erkennen ließe.

Die nachstehende kleine Tabelle illustriert die Beziehungen zwischen Alter und N-Verdauung der Kinder:

3. Lebensjahr Namen	N-Verdauung in %	4. Lebensjahr Namen	N-Verdauung in %
Rodewald	88,5	Hecke	89,1
Lose	83,5	Götschkes	83,9
Krüger	83,9	Eibert	87,9
Heise	87,7	Landwehr	86,7
Waßenmüller	86,4	Päschel	90,5
Moritz	86,4	Strauß	87,6
Radüntz	88,7	Lückmann	87,6
Durchschnitt:	86,4	Struß	90,6
		Schröder	84,2
		Durchschnitt:	87,6

5. Lebensjahr	
Marzyski	86,2
Harndt	82,0
Malitzki	88,6
Neumann	88,0
Simon	88,3
Wenzel	86,8
Durchschnitt:	86,7

6. Lebensjahr	
Schalich	81,7
Tinz	93,0
Fedtke	87,3
Lieberknecht . . .	90,1
Cimanowski	83,2
Groß	86,5
Rahr	83,1
Pioch	91,1
Wagner	91,8
Winkler.	82,6
Durchschnitt:	87,0

Die Differenzen in der N-Verdauung zwischen den einzelnen Lebensaltern sind demnach sehr gering und sprechen nicht in einem Sinne. Aus diesen Werten läßt sich nur schließen, daß die N-Verdauung bei 3—6 jährigen Kindern vom Alter unabhängig ist.

Was nun meine Werte für den Anteil des vegetabilen Eiweißes am Gesamteiweißkonsum selbst anbetrifft, so ist zu bemerken, daß meine Versuchskinder im Durchschnitt 75,6% animalisches und 24,4% vegetabiles Eiweiß aufgenommen haben. Diese Zahlen stimmen gut überein mit den von mir für die Kinder von Hasse berechneten Werten, wie es die nachfolgende Zusammenstellung zeigt:

100 g Nahrungseiweiß bestehen aus:

			animalischem	vegetabilischem
Kind	Nr. 3,	4 J. 9 M.	75,83	24,17
„	Nr. 4,	2 J. 6 M.	88,70	11,3
„	Nr. 3a,	5 J. 5 M.	72,5	27,5
„	Nr. 4a,	3 J. 2 M.	81,48	18,52
„	Nr. 5,	3 J. 6 M.	69,17	30,83
„	Nr. 6,	2 J. 3 M.	68,33	31,67
		Durchschnitt:	76,0 g	24,0 g

Die Zahlen sind Mittelwerte aus den einzelnen Versuchsreihen.

Gegenüber der immerhin doch gleichmäßig guten N-Verdauung sind die prozentualen Werte für die N-Retention ziemlich

abweichend untereinander. Vier Kinder haben mehr N abgegeben, als sie aufgenommen haben, jedoch ist bei drei von diesen der Verlust so klein, daß es erlaubt ist, bei ihnen von einem N-Gleichgewicht zu sprechen. Nur ein Kind (Lieberknecht Nr. 4) hat eine größere N-Abgabe, und zwar hat es während der ganzen Versuchszeit bei einer Gesamt-N-Aufnahme von 52,4 g 3,4 g N vom Körper N abgegeben, d. i. 6%. Ich komme später bei der Berechnung der N-Bilanz „auf Kilo und Tag“ als Einheit auf diesen Fall noch näher zurück. Bei den übrigen 28 Kindern schwanken die Werte zwischen 22,4 und 0,2% Retention des resorbierten resp. 19,4 und 0,2% des eingeführten N. Von der Berechnung eines Durchschnitts habe ich abgesehen, da die Werte so ungleich sind, daß mir ein für die Allgemeinheit brauchbarer Wert ohne Zwang nicht aufzustellen schien. Immerhin läßt sich schon jetzt sagen, daß meine Versuche die schon von Camerer für das kindliche Alter betonte Tatsache vollauf bestätigen, wonach der wachsende Organismus, gleichwie der ausgewachsene den aufgenommenen N zum allergrößten Teile wieder abgibt und nur einen sehr kleinen Teil zum Aufbau für den Körper verwendet. Von dem Energiewert der Nahrung gingen im Durchschnitt aller Kinder 6% durch den Kot verloren und 94% in den Körper über. Die Differenzen bei den einzelnen Kindern sind sehr gering, so daß dieser Wert als ein ausgezeichneter Mittelwert bezeichnet werden kann. Die durch den Urin dem Körper verlorene Energie ist gleichfalls gering, sie beträgt nur 5%; es sind demnach der 90% mit der Nahrung aufgenommenen Energie und 95% dem von Brennwert des Resorbierten dem Körper tatsächlich zugutegekommen.[1]) Auch hier weichen die Einzelwerte sehr wenig von dem Durchschnittswert ab, so daß dieser als brauchbarer Mittelwert für die Energieverwertung bei Kindern im 3.—6. Lebensjahre, welche eine gemischte Diät erhalten, angesehen werden darf.

Ich gehe jetzt zur Besprechung der pro Tag und Kilo berechneten Werte der Stoffwechselbilanz über. In der Tabelle 2 (s. diese) sind dieselben für alle Kinder zusammengestellt. Es war von vornherein möglich, daß die Werte der hier durchgeführten Durchschnittsberechnung pro Tag aus den 6tägigen

[1]) Der physiologische Nutzwert der gemischten Nahrung meiner Versuchskinder betrug also 90%.

Versuchen den tatsächlichen Verhältnissen Zwang antun, und zwar insofern, als die täglichen N- resp. Energieaufnahmen untereinander so abweichen, daß der berechnete Mittelwert den täglichen Aufnahmen nicht recht entspricht. Ich habe zur Entscheidung dieser Frage bei vier beliebig ausgewählten Kindern den täglichen N- resp. Energiekonsum berechnet.

1. Knabe Schalich Nr. 5

Absolute Aufnahme pro Tag	N	Calor.
1. Tag	9,03	1790,0
2. Tag	10,08	2018,9
3. Tag	9,04	1938,9
4. Tag	7,95	1521,5
5. Tag	9,41	1874,0
6. Tag	10,17	2166,2
Durchschnitt:	9,28	1888,7

2. Knabe Päschel Nr. 14.

Absolute Aufnahme pro Tag	N	Calor.
1. Tag	7,49	1375,6
2. Tag	7,94	1574,2
3. Tag	6,77	1164,9
4. Tag	6,59	1193,3
5. Tag	7,17	1237,3
6. Tag	7,18	1235,1
Durchschnitt:	7,1	1296,5

3. Knabe Rodewald Nr. 19

	N	Calor.
1. Tag	5,14	904,2
2. Tag	5,30	947,5
3. Tag	5,66	1090,9
4. Tag	4,68	854,1
5. Tag	5,12	906,0
6. Tag	5,38	872,6
Durchschnitt:	5,21	929,2

4. Mädchen Marzyski Nr. 32

	N	Calor.
1. Tag	6,31	1052,6
2. Tag	6,60	1259,0
3. Tag	5,75	1041,6
4. Tag	5,97	969,9
5. Tag	7,15	1271,7
6. Tag	6,89	1117,5
Durchschnitt:	6,41	1135,2

Wie diese Zusammenstellung zeigt, sind die täglichen Schwankungen in der Aufnahme gering, so daß die berechneten Durchschnittswerte der Wahrheit sehr nahe kommen und allgemein brauchbar sind.

Danach haben meine Versuchskinder im Durchschnitt:

0,55 g N pro Tag und Kilo aufgenommen (oder 3,44 g Eiweiß) und
0,07 g N „ „ „ „ im Kot ausgeschieden. Sie haben somit
0,48 g N „ „ „ „ verdaut. Im Urin haben sie
0,44 g N „ „ „ „ ausgeschieden und demnach
0,04 g N „ „ „ „ retiniert.

Von 1 g mit der Nahrung aufgenommenen N sind mithin

0,1 g mit dem Kote ausgeschieden,
0,8 g „ „ Urin verloren gegangen und
0,1 g retiniert worden.

Vergleicht man meine Werte mit denjenigen der früheren Autoren, so findet sich im allgemeinen eine gute Übereinstimmung in der Eiweißaufnahme:

Autor	Lebensjahr	Geschlecht	Eiweiß pro Tag u. Kilo
1. Camerer	2.—4. Lebensj.	Mädchen	3,6 g
„	5.—7. Lebensj.	„	3,0 g
„	5.—6. Lebensj.	Knabe	3,5 g
2. Uffelmann	2¼ Jahr	„	4,1 g
„	4¼ Jahr	„	3,6 g
3. Hasse	3. u. 4. Lebensj.	Mädchen	3,6 g
„	5. u. 6. Lebensj.	„	3,8 g
4. Schabanowa	2.—5. Lebensj.	keine Angabe	4,9 g
5. Herbst	2. J. 4 M.	Knabe	3,6 g
„	4. J. 4 M.	„	3,8 g
6. Baginsky	3¼ Jahr	„	4,5 g
„	5 Jahre	„	3,97 g
„	5½ Jahr	„	3,66 g
„	6 Jahre	Mädchen	4,41 g
7. meine Versuchskinder:			
	3.—6. Lebensj.	Knaben + Mädchen	3,4 g
und zwar im	3. Lebensj.	„ „	3,3 g
	4. Lebensj.	„ „	3,4 g
	5. Lebensj.	„ „	3,6 g
	6. Lebensj.	„ „	3,4 g

Die Werte stimmen im allgemeinen gut überein, nur sind diejenigen von Baginsky etwas hoch. Der sehr hohe Wert von Schabanowa (4,9 g) ist nur ein Mittelwert, berechnet nach dem in dem Petersburger Kinderhospital des Prinzen von Oldenburg üblichen Kostmaß, und hat schon deshalb nur sehr geringe Be-

deutung, dazu weiß man nicht, wie groß die Abfälle von der wirklichen Aufnahme sind. Wie schon erwähnt, ist das Nährstoffverhältnis bei meinen Versuchskindern ein sehr weites (1 : 6,2). Die Eiweißaufnahme von 3,4 g beweist, daß der Grund hierfür in der reichlichen Zufuhr von Kohlehydraten und Fett zu suchen ist, und nicht in einer besonders knappen Aufnahme von Eiweiß, da meine eigenen Werte denjenigen der früheren Autoren sehr nahe liegen, allerdings sich mehr den niedrigeren Werten anreihen.

In neuester Zeit (Naturforscherversammlung Stuttgart 1906) hat sich Siegert mit großer Entschiedenheit für die Herabsetzung des N-Konsums bei Kindern jenseits des 1. Lebensjahres auf Grund eigener Beobachtungen, deren Veröffentlichung noch aussteht, ausgesprochen. Er hat darauf hingewiesen, daß der Säugling mit einer Eiweißzufuhr von ca. 1 g pro Tag und Kilo gut auskommt, und daß der Erwachsene mit etwa der gleichen Menge seinen Bedarf decken kann, wie es die bekannten Versuche von Chittenden (6) und anderen beweisen sollen. Zwischen diesen beiden Altersstufen nimmt das ältere Kind, was gewiß bemerkenswert ist, mit seinem durchschnittlichen Eiweißkonsum von 3—4 g pro Tag und Kilo eine Sonderstellung ein. Aber alle diesbezüglichen Versuche haben bisher zu dem gleichen Resultate geführt. Allerdings ist noch niemals der Versuch gemacht worden, ältere Kinder mit einer begrenzten N-Menge längere Zeit zu ernähren, ihren Stoffwechsel dabei zu prüfen und so den eigentlichen N-Bedarf festzustellen. Es ist natürlich streng zwischen N-Konsum und N-Bedarf zu unterscheiden. Letzterer wird gewiß im allgemeinen etwas niedriger sein als ersterer, ob aber die Differenz bei Kindern, welche eine reichlich gemischte Kost erhalten, eine wesentliche ist, erscheint doch recht zweifelhaft. Ich möchte noch hier scharf hervorheben, daß alle Autoren nach Camerer (Hasse, Herbst, Uffelmann, Heubner, Selter) die Werte dieses Forschers durchaus richtig angegeben haben. Camerer hat in der 2. Auflage seines bekannten Buches nur die Eiweißwerte für die Menschenmilch auf Grund der in der Zwischenzeit (zwischen beiden Auflagen) bekannt gewordenen Untersuchungen von Heubner - Hoffmann modifiziert. Es muß dieser Irrtum Siegerts mit aller Entschiedenheit zurückgewiesen werden, damit nicht in der pädiatrischen Literatur die Auffassung weiter fort-

geschleppt wird, daß erst Siegert die Werte Camerers richtig verstanden hat. Die eigenmächtige Umrechnung der Eiweißwerte Camerers für das ältere Kind, wie sie Siegert vorgenommen hat, ist in keiner Weise berechtigt, und seine Erklärungen dafür in dem Nachwort zu seinem Vortrage (Bericht d. Gesellsch. f. Kinderheilk., Stuttgart 1906) sind nicht geeignet, sein Vorgehen zu rechtfertigen.

Wenn Camerer angibt, daß beim älteren Kind 17% des Energiebedarfes durch Eiweiß gedeckt werden, so beruht diese Angabe doch in erster Linie auf dem Resultat seiner eigenen ausgezeichneten Versuche und nicht, wie Siegert annimmt, auf theoretischen Erwägungen. Rubner gibt als charakteristisch für die Kost des Kindes an, daß 16,6% der Energiezufuhr aus Eiweiß bestehen. Beide Werte stimmen gut überein. Das Ergebnis meiner eigenen Versuche ist, daß im 3.—6. Lebensjahr von 100 Cal. 13,8 durch Eiweiß gedeckt sind. Es ist möglich, daß die alten und selbst meine neuen Werte noch etwas hoch sind, da meine Versuchskinder, wie schon erwähnt, in der Nahrungsaufnahme kaum beschränkt gewesen sind; es wurden ihnen im Hauptversuche die Portionen zugeteilt, welche sie im Vorversuche mit Appetit verzehrt hatten. Ich möchte auch noch einmal besonders darauf hinweisen, daß meine Versuchskinder durchaus nicht einseitig mit Milch, Fleisch und Eiern ernährt worden sind, also nicht die Kinder repräsentieren, gegen welche sich Siegert — und im allgemeinen gewiß mit Recht — besonders in seinen Ausführungen wendet. Ich habe die Kinder mit einer reichlich gemischten Diät ernährt, und trotzdem ist der Eiweißkonsum der hohe von 3,4 g pro Tag und Kilo. An dieser Tatsache werden auch neue Untersuchungen in dieser Richtung nichts ändern, wenn ich auch zugeben muß, daß mein Wert des durchschnittlichen Eiweißkonsums durchaus nicht den Minimumwert des Eiweißbedarfes darstellt. Wieweit die Feststellung eines solchen möglich oder wünschenswert ist, wird die Zukunft lehren.

Bei näherer Betrachtung der einzelnen Kinder zeigen sich zum Teil nicht unbeträchtliche Differenzen im N-Stoffwechsel, wenn auch die große Mehrzahl der Kinder den Durchschnittswerten sehr nahe liegende Mengen N sowohl aufgenommen, als auch verdaut und retiniert hat. Es wird der Zweck der nachfolgenden Betrachtungen sein, nachzuforschen, welche Ursachen den

Verschiedenheiten im Stoffwechsel der einzelnen Kinder zugrunde liegen. Wenn ich mit der N-Aufnahme beginne, so lassen sich zwanglos aus dem Gros der Kinder zwei Gruppen abtrennen, die eine, welche weit unter und die zweite, welche weit über dem Durchschnitt (von 0,55 g) N aufgenommen hat. Diese Trennung ist gewiß eine willkürliche, aber für das Verständnis förderliche. Es fragt sich zuerst, worauf die auffällig geringe resp. hohe N-Zufuhr bei diesen beiden Gruppen beruht, und es ist natürlich, vor allem festzustellen, in welchen Mengen die Kinder die Hauptrepräsentanten der N-haltigen Nahrungsmittel verzehrt haben. Die nachfolgende kleine Tabelle gibt darüber gut Aufschluß.

Die wichtigsten N-Spender in der Nahrung meiner Versuchskinder sind 1. die Milch, 2. die Semmel, 3. das Fleisch, und zwar ist die Milch bei der Gesamtzufuhr von N mit zwei Vierteln, die Semmel und das Fleisch mit je einem Viertel beteiligt; die anderen N-haltigen Nahrungsmittel, wie das Gelbei, die Gemüse und die Butter, können hier wegen der geringen mit denselben eingeführten N-Mengen vernachlässigt werden.

Gruppe 1. Kinder mit geringer N-Aufnahme.

		Geschlecht	Alter	Gesamt-N-Aufnahme	N-Zufuhr mit d. Milch	mit d. Semmel	mit d. Fleisch	Cal. Zufuhr
Heise	Nr. 22,	weibl.	2 J. 9 M.	0,40 g	0,24 g	0,06 g	0,06 g	71,4
Schröder	„ 31,	„	3 „ 9 „	0,44 „	0,25 „	0,10 „	0,06 „	79,1
Wenzel	„ 6,	männl.	4 „ 7 „	0,42 „	0,19 „	0,12 „	0,07 „	89,1

Gruppe 2. Kinder mit reichlicher N-Aufnahme.

		Geschlecht	Alter	Gesamt-N-Aufnahme	N-Zufuhr mit d. Milch	mit d. Semmel	mit d. Fleisch	Cal. Zufuhr
Päschel	Nr. 14,	männl.	3 J. 3 M.	0,66 g	0,34 g	0,13 g	0,15 g	118,3
Winkler	„ 12,	„	6 „ 2 „	0,68 „	0,34 „	0,17 „	0,14 „	126,2
Harndt	„ 8,	„	4 „ 3 „	0,68 „	0,36 „	0,11 „	0,13 „	131,8
Simon	„ 25,	„	4 „ 7 „	0,63 „	0,32 „	0,13 „	0,13 „	110,3
Tinz	„ 7,	„	5 „ 1 „	0,63 „	0,33 „	0,10 „	0,13 „	124,0
Malitzki	„ 13,	„	4 „ 4 „	0,62 „	0,29 „	0,17 „	0,12 „	114,3

Es fällt zuerst auf, daß alle Kinder mit reichlicher N-Zufuhr Knaben sind, während unter den drei Kindern mit geringer N-Aufnahme zwei Mädchen sich befinden. Das Geschlecht hat demnach eine gewisse Bedeutung, worauf ich noch später zurückkommen werde. Das Alter läßt keinen deutlichen Einfluß er-

kennen, was etwas auffällig ist, da im allgemeinen die jüngeren Kinder mehr Milch trinken als die älteren. Ganz eindeutig ist die Beziehung von N-Aufnahme und Milchkonsum; die Kinder mit geringer N-Zufuhr haben durchweg wenig Milch getrunken und umgekehrt. Ein Vergleich der N-Aufnahme mit der Semmel zeigt kein so klares Bild, wenn auch im allgemeinen die höheren Werte bei Gruppe 2 zu finden sind; dagegen haben die Kinder mit guter N-Zufuhr auch etwa doppelt so viel Fleisch verzehrt wie diejenigen mit geringer N-Aufnahme. Das entscheidende Moment liegt jedoch im Milchkonsum, während die Semmel und Fleischaufnahme erst in zweiter Linie in Betracht kommen können. Überhaupt haben die Kinder oft mehr Milch getrunken, als mir lieb war. Die letzte Rubrik schließlich zeigt, und das ist eigentlich das wesentlichste Ergebnis dieser kleinen Zusammenstellung, daß die N-Aufnahme in ausgesprochenem Maße eine Teilerscheinung der Gesamtnahrungsaufnahme ist. Die Kinder mit einer knappen N-Aufnahme haben auch eine geringe Gesamtkraftzufuhr und umgekehrt. Das Verhältnis von N zur Gesamtenergieaufnahme ist im Durchschnitt aller Kinder 1:187,4 Cal. (s. Tabelle 4). Berechne ich das gleiche Verhältnis bei den Kindern mit geringer resp. reichlicher N-Zufuhr, so ergibt sich:

bei Gruppe 1 ein solches von 1 : 190,2 Cal. und
„ „ 2 „ „ „ 1 : 185,9 „

Das Verhältnis verschiebt sich, wie ersichtlich, nur sehr wenig, N-Aufnahme und Gesamtzufuhr sind einander annähernd proportional.

Es ist weiterhin interessant, zu sehen, ob eine reichliche N-Zufuhr die N-Ausscheidung im Darm zu beeinflussen vermag, d. h. wie weit die Leistungsfähigkeit in der Verdauung des Eiweißes bei meinen Kindern geht.

Gruppe 1. Kinder mit geringer N-Aufnahme.

Namen	N-Aufnahme	N-Verlust im Kot	N-Resorption
Heise	0,40	0,05	0,35
Schröder . . .	0,44	0,07	0,37
Wenzel	0,42	0,06	0,36
Durchschnitt .	0,42	0,06 d. i. 14%	0,36 d. i. 86%

Gruppe 2. Kinder mit reichlicher N-Aufnahme.

Päschel	0,66	0,06	0,60
Winkler	0,68	0,12	0,56
Harndt	0,68	0,12	0,56
Simon	0,63	0,07	0,56
Tinz	0,63	0,04	0,59
Malitzki	0,62	0,07	0,55
Durchschnitt .	0,65	0,08 d. i. 12%	0,57 d. i. 88%

Diese Tabelle zeigt, daß N-Zufuhr und Verdauung annähernd proportional sind, bei einer hohen N-Aufnahme pro Tag und kg ist die N-Ausscheidung im Kot nur sehr wenig höher als bei einer knappen N-Zufuhr und prozentual sogar etwas niedriger, eine reichliche N-Ernährung hat auch eine entsprechende N-Resorption zur Folge. Der N-Gehalt des Kotes ist auch bei meinen Versuchskindern sehr konstant, was gut mit unserer Vorstellung übereinstimmt, daß der N des Kotes zum großen Teile aus den Verdauungssäften des Darmes stammt und vielleicht nur zum kleineren Teil wirklicher Rest des Nahrungseiweißes ist.

Die Werte für die N-Aufnahme und Verdauung bei den übrigen 23 Kindern sind außerordentlich gleichmäßig. Wesentlich anders liegen die Verhältnisse bei der Retention. Hier sind die Zahlen sehr schwankend, so daß der berechnete Durchschnittswert von 0,04 g zur Aufstellung eines allgemein gültigen Wertes für die N-Retention in der Altersklasse und bei der gemischten Ernährung meiner Versuchskinder nur bedingte Bedeutung beanspruchen kann. Suche ich auch hier die Kinder mit schlechter und diejenigen mit guter N-Retention heraus, so lassen sich folgende zwei Gruppen aufstellen.

a) Kinder mit schlechter N-Retention:

	N-Retent	N-Zufuhr in g	Kraftzufuhr i. Cal.	Gewichts-Veränder.
1. Lieberknecht Nr. 4, Knabe	— 0,04	0,60	126,9	+ 340 g
2. Eibert Nr. 27, Mädchen	— 0,01	0,54	92,7	— 24 „
3. Fedtke Nr. 24, Knabe .	— 0,01	0,51	88,8	+ 87 „
4. Schröder Nr. 31, Mädch.	— 0,01	0,44	79,1	+ 143 „
5. Rodewald Nr. 19, Knabe	± 0,00	0,52	92,1	— 78 „
6. Rahr Nr. 2, Knabe . .	+ 0,01	0,56	112,9	+ 249 „

7. Cimanowski Nr.18, Kn. .	+ 0,01	0,51	95,5	+ 129 g
8. Wagner Nr. 28, Mädchen	+ 0,01	0,55	97,3	+ 178 „
9. Piech Nr. 9, Knabe . .	+ 0,02	0,51	101,4	+ 269 „
10. Lükmann Nr. 11, Knabe	+ 0,02	0,52	105,4	+ 99 „
11. Marzyski Nr.32, Mädch.	+ 0,02	0,53	94,6	+ 441 „
Durchschnitt:	+ 0,02 g	0,53 g	98,8 C.	+ 167 g

b) Kinder mit guter N-Retention:

1. Harndt Nr. 8, Knabe .	+ 0,08	0,68	131,8	+ 307 g
2. Radünz Nr. 21, Mädch.	+ 0,08	0,56	100,0	+ 61 „
3. Hecke Nr. 10, Knabe . .	+ 0,09	0,59	111,3	− 61 „
4. Winkler Nr. 12, Knabe .	+ 0,09	0,68	126,2	+ 242 „
5. Struß Nr. 17, Knabe .	+ 0,09	0,57	103,3	+ 333 „
6. Päschel Nr. 14, Knabe .	+ 0,10	0,66	118,3	+ 69 „
7. Malitzki Nr. 13, Knabe .	+ 0,11	0,62	114,3	+ 262 „
8. Moritz Nr. 15, Knabe .	+ 0,11	0,58	109,9	+ 132 „
Durchschnitt:	+ 0,09 g	0,62 g	114,4 C.	+ 168 g

Nach der vorstehenden Zusammenstellung haben 11 von meinen 32 Versuchskindern erheblich unter dem Durchschnitt von 0,04 g N retiniert, und zwar zeigen vier Kinder einen N-Verlust, ein Kind befindet sich im N-Gleichgewicht, und bei sechs Kindern ist der N-Ansatz im Vergleich zum Durchschnitt ein sehr geringer. Das einzige Kind mit einem größeren N-Verlust ist Lieberknecht Nr. 4, welches 0,04 g N abgegeben hat; dabei hat dieser Knabe eine Gewichtsvermehrung von 340 g. Dieser N-Verlust ist kaum zu erklären. Wie schon erwähnt, hat das Kind am vierten Versuchstage augenscheinlich eine Magenindisposition gehabt. Nun beruhen aber die von mir benutzten Werte auf den Versuchsergebnissen vor dieser Verstimmung, es ist jedoch andrerseits wohl möglich, daß die Unpäßlichkeit ihre Schatten vorausgeworfen und den Stoffwechsel ungünstig beeinflußt hat. Bei sieben Kindern der ersten Gruppe ist die N-Abgabe resp. der Ansatz so gering (± 0,01 g N), daß man füglich auch bei ihnen von einem N-Gleichgewicht sprechen kann. Die Gewichtsveränderungen stehen augenscheinlich mit der N-Retention nicht in unmittelbarer Beziehung, es tritt vielmehr klar hervor, daß dieselben nicht durch Fleischansatz oder -Verlust, sondern durch Verschiebungen im Fett (resp. Wasser)bestande des Körpers bedingt

sind. Nur ein Kind verbindet einen N-Verlust mit einer Gewichtsabnahme, während bei den drei anderen eine nicht unwesentliche Zunahme mit dem N-Verlust einhergeht. Bemerkenswert ist, daß nur ein Kind von den drei Kindern mit sehr geringer N-Aufnahme in diese Gruppe fällt, und zwar das Kind Schröder Nr. 31, welches bei der relativ geringen Zufuhr von 0,44 g N einen N-Verlust von 0,01 g aufweist. Die beiden anderen Kinder (Heise und Wenzel) zeigen trotz der relativ geringen N-Zufuhr eine dem Durchschnitt nahe liegende Retention, so daß man daraus den Schluß ziehen kann, daß für diese Kinder die knappe N-Aufnahme eine durchaus genügende war. Die 2. Gruppe (Kinder mit hoher N-Zufuhr) umfaßt acht Kinder, unter welchen zwei Kinder die überhaupt höchste N-Retention unter meinen Versuchskindern, nämlich 0,11 g aufweisen. Vier von den sechs Kindern mit sehr reichlichem N-Konsum (Harndt, Winkler, Päschel und Malitzki) haben schließlich auch eine ausgezeichnete Retention erreicht. Es läßt sich jedoch nicht, wie verlockend es auch erscheint, daraus der Schluß ziehen, daß die gute N-Retention in ursächlichem Zusammenhang mit der reichlichen N-Aufnahme steht, es muß vielmehr hier auch die sehr hohe Kraftzufuhr berücksichtigt werden; denn es ist sehr wohl möglich, daß die Kinder bei dieser sehr reichlichen Gesamtaufnahme eine gleich gute N-Retention auch bei einer knapperen N-Zufuhr hätten erzielen können. Die durchschnittliche N-Aufnahme ist bei Gruppe 2 eine erheblich bessere, und ebenso die Kraftzufuhr. Aber auch bei dieser Gruppierung der Kinder zeigt es sich, daß der hohe Eiweißkonsum nur eine Teilerscheinung einer erhöhten Gesamtaufnahme ist. Das Verhältnis von N zu Calorien ist bei beiden Gruppen nahezu das gleiche, und zwar bei Gruppe 1 „1 : 186“, und bei Gruppe 2 1 : 184. Die Gewichtszunahme ist bei beiden Gruppen nahezu identisch, was zum mindesten gegen eine Beziehung von N-Retention und Gewichtsveränderung spricht. Sehr auffallend ist der Gewichtsverlust von Hecke Nr. 10 bei der reichlichen N-Retention von 0,09 g N. Es war möglich, daß bei diesem Kinde die N-Aufnahme während des Vorversuches eine sehr geringe war, und daß das Kind dann das Minus an N durch einen erhöhten Ansatz im Hauptversuche auszugleichen bestrebt war. Ich habe deshalb die N-Zufuhr der Vorperiode berechnet. Das Kind hat in dieser 0,60 g N und 119,3 Cal. pro Tag und Kg. aufgenommen,

also nahezu die gleiche Menge N wie im Hauptversuche, und nur um ein Weniges mehr Gesamtenergie. Das Nährstoffverhältnis ist infolgedessen ein etwas weiteres, aber die Differenz ist gering. An Eiweißhunger hat das Kind jedenfalls nicht gelitten. Weitere Versuche, für die Verschiedenheiten in der N-Bilanz bei meinen Versuchskindern eine Erklärung zu finden, habe ich in den nachfolgenden Tabellen gemacht und dazu einige geistige und körperliche Eigenschaften der Kinder, wie erwähnt, bei der Gruppierung berücksichtigt.

Ich gehe jetzt zur Besprechung der Energiebilanz über. Danach haben meine Versuchskinder mit der Nahrung überhaupt aufgenommen . . . . 103,7 Cal.
Der Energieverlust durch den Kot beträgt . . . 5,9 „
Mithin ist der Energiewert des Verdauten . . . . . 97,8 „
Der Energieverlust durch den Urin beträgt . . . 4,6 „
Es sind demnach im Körper verbrannt resp. angesetzt worden . . . . 93,2 „

Oder von 100 mit der Nahrung aufgenommenen Calorien sind
5,7 mit dem Kote verloren gegangen,
4,4 sind im Urin verloren gegangen, und der Rest von
89,9 ist im Körper verbrannt resp. angesetzt worden.

Ich setze noch einmal zum Vergleich die Werte der N-Bilanz hierher:

Von 100 mit der Nahrung aufgenommenen g N sind
10 mit dem Kote und
80 im Urin ausgeschieden worden und
10 im Körper retiniert worden.

Im allgemeinen ist die Kraftzufuhr bei meinen Versuchskindern eine sehr hohe, nur wenige der früheren Autoren geben für Kinder der gleichen Altersklasse annähernd so hohe Werte an. Der von mir berechnete Durchschnittswert von 103,7 Cal. liegt dem von Heubner (10) für den Säugling im ersten Lebenshalbjahre angegebenen Energiequotienten (100 Cal.) sehr nahe und ist gewiß für Kinder des 3.—6. Lebensjahres ein auffallend hoher. Andererseits sinkt aber der Energiequotient bei den früheren Autoren, worauf ich noch zurückkomme, auch erst für das spätere Kindesalter (7.—10. Lebensjahr) erheblich, während er für das 3.—6. Lebensjahr auch bei ihnen relativ (d. h. zum

späteren Alter) hoch ist. Es ist bei meinen Werten immer wieder zu betonen, daß sie keine Minimumwerte darstellen, sondern Durchschnittswerte für die Kraftzufuhr bei Kindern, welche ihr Nahrungsbedürfnis nach Wunsch stillen konnten.

Wie die letzte Rubrik der Tabelle 2 zeigt, sind die Zunahmen meiner Versuchskinder zum großen Teile außerordentlich hohe, und jedenfalls solche, welche die normalen Zunahmen von Kindern dieser Altersperiode oft weit übersteigen und bei längerer Dauer eine allmähliche Mästung der Kinder herbeiführen müssen. Ich muß nun zugeben, daß mein Versuchsmaterial insofern ein außergewöhnliches ist, als die meisten meiner Versuchskinder einmal dem Gewicht nach gegenüber der Norm zurückgeblieben waren, dann befanden sich manche vielleicht doch noch in einem Stadium der Erholung nach einer früheren Periode mangelhafter Ernährung oder nach mehr oder weniger schweren Erkrankungen, und es ist natürlich, daß solche Kinder in dem Bestreben, Verlorenes einzuholen, eine gesteigerte Nahrungsaufnahme zeigen. Ich habe diese Gefahr, als ich meine Versuche begann, gewiß erkannt, und ich habe mich auch bestrebt und bemüht, nur solche Kinder zum Versuch heranzuziehen, welche nach monatelanger Anwesenheit in meiner Anstalt kurz vor der Entlassung standen, und von welchen ich annehmen zu können glaubte, daß sie sich nach der langen, immer gleichen Ernährung im Zustande einer gleichmäßigen und normalen Nahrungsaufnahme befanden. Ich glaube heute, daß ich bei manchem Kinde hierbei geirrt habe. Um einen besser brauchbaren Wert für die Kraftzufuhr in der Altersklasse meiner Versuchskinder zu erhalten, habe ich die Kinder nach der Gewichtsveränderung gruppiert und dann die Energieaufnahmen dieser Gruppen berechnet.

Gruppe 1. Kinder mit Gewichtsverlust:

Namen	Versuchs-Nummer	Gewichts-Veränderung	Kraftzufuhr pro Tag und kg	Kraftzufuhr pro Tag und dm²	N-Zufuhr pro Tag u. kg
Heise	22	— 88 g	71,4 Cal.	14,2 Cal.	0,40 g
Rodewald	19	— 78 „	92,1 „	16,6 „	0,52 „
Hecke	10	— 61 „	111,3 „	19,9 „	0,59 „
Lose	20	— 61 „	92,7 „	16,3 „	0,51 „
Eibert	27	— 24 „	92,7 „	16,5 „	0,54 „
Durchschnitt: . .		— 62 g	92,0 Cal.	16,7 Cal.	0,51 g

Gruppe 2. Kinder mit einer Gewichtszunahme bis 200 g.

Radünz	21	+ 61 g	100,0 Cal.	18,3 Cal.	0,56 g
Päschel	14	+ 69 „	118,3 „	22,0 „	0,66 „
Strauß	16	+ 70 „	107,7 „	21,3 „	0,58 „
Fedtke	24	+ 87 „	88,8 „	19,8 „	0,51 „
Lückmann . . .	11	+ 99 „	105,4 „	2,0 „	0,52 „
C manowski . . .	18	+ 129 „	95,5 „	19,6 „	0,51 „
Moritz	15	+ 132 „	109,9 „	20,4 „	0,58 „
Schröder	31	+ 143 „	79,1 „	15,9 „	0,44 „
Wagner	28	+ 178 „	97,3 „	19,7 „	0,55 „
Waßenmüller . .	23	+ 195 „	103,2 „	19,6 „	0,59 „
Durchschnitt: . .		+ 116 g	100,5 Cal.	19,7 Cal.	0,55 g

Gruppe 3. Kinder mit einer Gewichtszunahme von über 200 g.

Landwehr . . .	30	+ 214 g	96,4 Cal.	18,7 Cal.	0,57 g
Winkler	12	+ 242 „	126,2 „	24,4 „	0,68 „
Rahr	2	+ 249 „	112,9 „	23,1 „	0,56 „
Wenzel	6	+ 258 „	89,1 „	19,4 „	0,42 „
Krüger	26	+ 261 „	100,8 „	19,2 „	0,57 „
Schalich	5	+ 262 „	111,2 „	23,9 „	0,55 „
Malitzki	13	+ 262 „	114,3 „	23,0 „	0,62 „
Rioch	9	+ 269 „	101,4 „	21,8 „	0,51 „
Neumann	29	+ 274 „	92,4 „	18,9 „	0,53 „
Götschkes . . .	1	+ 289 „	106,5 „	21,4 „	0,50 „
Groß	3	+ 304 „	108,7 „	22,7 „	0,54 „
Harndt	8	+ 307 „	131,8 „	25,6 „	0,68 „
Struß	17	+ 333 „	103,3 „	20,8 „	0,57 „
Lieberknecht . .	4	+ 340 „	126,9 „	25,8 „	0,60 „
Simon	25	+ 359 „	110,3 „	21,5 „	0,63 „
Marzyski	32	+ 441 „	94,6 „	18,1 „	0,53 „
Tinz	7	+ 474 „	124,0 „	24,4 „	0,63 „
Durchschnitt: . .		+ 302 g	108,9 Cal.	21,9 Cal.	0,57 g

Vergleiche ich die Durchschnittswerte dieser drei Gruppen untereinander, so zeigt es sich, daß meine Versuchskinder bei einer Kraftzufuhr von 92 Cal. an Gewicht verloren haben, bei einer solchen von 100,5 Cal. eine mäßige durchschnittliche Zunahme von 116 g und bei der noch reichlicheren Zufuhr von

108,9 Cal. eine unnatürlich große Gewichtsvermehrung von 302 g aufzuweisen haben.

Nach dieser Gruppierung zu urteilen, ist die Energieaufnahme von 109 Cal. zweifellos eine zu reichliche; einer verständigen und wünschenswerten Zunahme schon mehr entsprechend ist die Nahrungsaufnahme der zweiten Gruppe mit 101 Cal., während die erste Gruppe mit ihrer Zufuhr von 92 Cal. augenscheinlich hinter dem Bedarf zurückgeblieben ist. Die Kraftzufuhr, welche mit einem guten Gedeihen der Kinder, ohne eine unnatürliche Mästung herbeizuführen, im Einklang steht, liegt also zwischen 92 und 101 Cal. und dürfte etwa 96—97 Cal. betragen. Dieser Wert ist dem von mir berechneten Durchschnittswert (103,7 Cal.) aller Versuchskinder sicher vorzuziehen, er entspricht mehr einer wünschenswerten, allmählichen körperlichen Entwicklung von Kindern in der von mir untersuchten Altersklasse, und ich stehe nicht an, ihn für diese als einen allgemein brauchbaren Annäherungswert der Kraftzufuhr zu erklären. Es ist nur noch zu erwägen, ob der von mir gefundene N-Konsum von 0,55 g für meine Versuchskinder ein notwendiger war, und ob nicht bei einer geringeren N-Aufnahme die Verdauungsarbeit (Rubners spezifisch dynamische Wirkung des Eiweißes), und damit die Energiezufuhr hätte verringert werden können. Die Herabsetzung des Wertes würde freilich nur gering sein. Bestimme ich den Wert der wünschenswerten Kraftzufuhr in gleicher Weise, wie für den Tag und das Gewicht als Einheit, pro Tag und dm^2 Oberfläche, so finde ich denselben zwischen 19,7 und 16,7 Cal. liegend, er dürfte etwa 18 Cal. betragen. Ich komme in einem besonderen Kapitel noch auf die Berechnung meiner Bilanz auf die Oberfläche als Einheit zurück. Die Werte für die N-Zufuhr liegen auch hier wieder denjenigen der Gesamtaufnahme parallel. Über die meinen Versuchskindern notwendige N-Menge kann ich bei der reichlichen Gesamtaufnahme nicht gut etwas aussagen.

Ich gehe jetzt zu den Beobachtungen der früheren Autoren über die Energieaufnahmen ihrer Versuchskinder über.

Die von Camerer angegebenen Energiequotienten sind:

1. für Mädchen im Lebensalter von 2—4 Jahren bei einem Gewicht von 12,7 kg . . . . 81,2 Cal.
2. für Mädchen im Lebensalter von 5—7 Jahren bei einem Gewicht von 16,6 kg . . . . 74,5 „

3. für Knaben im Lebensalter von 5—6 Jahren bei einem Gewicht von 18,0 . . . . 83,2 Cal.
Für das spätere Kindesalter sinken dann seine Werte erheblich.
4. für Mädchen im Lebensalter von 8—10 Jahren bei einem Gewicht von 22,3 kg . . . . 64,2 Cal.
5. für Knaben im Lebensalter von 7—10 Jahren bei einem Gewicht von 24,0 . . . . 66,7 „

Sehr nahe liegen die Werte für die Mädchen von Hasse:

Diese haben im Alter von 2½—3¼ J. 76, 6 Cal. aufgenommen, und im Alter von 4¾—5½ J. 90,0 Cal.

Ziemlich scharf sinkt dann der Wert für das Alter von 8¾ bis 9⅓ J. auf 65,4 Cal. herab.

Die Werte von Uffelmann sind die folgenden:

Ein Kind im Alter von 2¼ J. hat 80,8 Cal. aufgenommen, ein Kind im Alter von 4¼ J. hat 78,2 Cal., bei einem schon erheblich älteren Kinde von 10½ J. geht die Energieaufnahme auf 61 Cal. herab.

Schließlich die Angaben von Herbst:

1. Knabe, 2 J. 3½ M. alt, hat im Mittel 90,2 Cal. aufgenommen,
2. „ 4 „ 4 „ „ „ „ „ 86,9 „ „
3. der weit ältere Knabe von 9 J. 10 M. 67,4 Cal.

Auch hier findet sich zwischen dem älteren und den beiden jüngeren Knaben eine erhebliche Differenz zugunsten dieser.

Auf die einzelnen Lebensjahre meiner Versuchskinder verteilt sich die Kraftzufuhr folgendermaßen:

3.	Lebensjahr	95,7	Cal.
4.	„	102,3	„
5.	„	105,4	„
6.	„	106,8	„

Ein Vergleich meiner eignen Werte mit denjenigen der früheren Autoren zeigt, daß diese nicht unwesentlich tiefer liegen. Am nächsten kommen ihnen noch die Befunde von Herbst für seine gleichaltrigen Knaben. Es ist allerdings zu berücksichtigen, daß die alten Werte auf einer indirekten Berechnung basieren, und zwar auf einer Abschätzung des dem Körper wirklich zugutekommenden Nährmaterials auf grund der Rubnerschen Standart-

zahlen. Sie sind deshalb auch mehr meinen Werten für die dem Körper zur Verfügung stehende Energie, auf welche ich noch zu sprechen komme, vergleichbar. Die von mir angegebenen Werte sind das Resultat direkter calorimetrischer Bestimmungen. Diese ergeben auch insofern etwas höhere Werte, als in der Nahrung neben Eiweiß, Fett und Kohlehydraten noch andere Stoffe, welche bei der direkten Verbrennung zur Geltung kommen, vorhanden sind. Dazu kommt noch, daß meine Versuchskinder, wie schon erwähnt, zum Teil dem Gewicht nach etwas rückständig waren; das im Verhältnis zu dem Lebensalter geringe Gewicht der Kinder trägt in bescheidenem Maße mit dazu bei, den Energiequotienten im Vergleich zum Lebensalter der Kinder hoch erscheinen zu lassen. Diese Momente sind aber natürlich keineswegs imstande, die Tatsache einer sehr hohen Energieaufnahme bei meinen Versuchskindern vollkommen zu erklären. Komme ich noch einmal auf die hohen Energiewerte in den einzelnen Lebensaltern zurück, so ist eine geringe, aber konstante Steigerung festzustellen. Es war eigentlich zu erwarten, daß die Kinder mit zunehmendem Alter, je mehr sie sich also dem Erwachsenenalter nähern, einen um so kleineren Energiequotienten zeigen würden. Das ist aber für meine Altersklasse nicht der Fall. Nach den Beobachtungen der älteren Forscher findet allerdings das Absinken der Energieaufnahme auch erst jenseits der Altersperiode meiner Versuchskinder statt. Es ist nur anzunehmen, daß die vom 3. bis 6. Lebensjahre naturgemäß stark zunehmende Lebhaftigkeit und der wachsende Bewegungstrieb in der ungestörten Freiheit noch nicht schulpflichtiger Kinder ihren Einfluß auf die Energieaufnahme resp. den Energiebedarf in dieser deutlichen Weise geltend machen. Es bestehen aber bei meinen Versuchskindern noch andere Unterschiede in der Energieaufnahme, welche offenbar mit dem Alter nichts zu tun haben, und welche ich jetzt näher besprechen möchte.

Analog meinem Vorgehen bei Besprechung der N-Bilanz will ich auch hier zuerst die Kinder herausgreifen, welche erheblich unter dem Durchschnitte liegende Energiewerte aufweisen, und diesen dann diejenigen gegenüberstellen, welche sich durch eine deutlich erhöhte Energieaufnahme auszeichnen.

Gruppe 1. Kinder mit geringer Energieaufnahme.

1. Mädchen Heise Nr. 22 hat 71,4 Cal.
2. „ Schröder Nr. 31 „ 79,1 „
3. Knabe Fedtke Nr. 24 „ 88,8 „
4. „ Wenzel Nr. 6 „ 89,1 „ aufgenommen.

Gruppe 2. Kinder mit reichlicher Energieaufnahme:

1. Knabe Simon Nr. 25 hat 110,3 Cal.
2. „ Schalich Nr. 5 „ 111,2 „
3. „ Hecke Nr. 10 „ 111,3 „
4. „ Rahr Nr. 2 „ 112,9 „
5. „ Malitzki Nr. 13 „ 114,3 „
6. „ Päschel Nr. 14 „ 118,3 „
7. „ Tinz Nr. 7 „ 124,0 „
8. „ Winkler Nr. 12 „ 126,2 „
9. „ Harndt Nr. 8 „ 131,8 „ aufgenommen.

Das Geschlecht hat einen gewißen Einfluß auf die Energieaufnahme, denn während Gruppe 2 nur aus Knaben besteht (wie bei der N-Zufuhr), setzt sich Gruppe 1 zur Hälfte aus Knaben und Mädchen zusammen. Vergleichen wir weiterhin die Kinder mit den beiden früher besprochenen Gruppen (Kinder mit niedriger und mit hoher Eiweißaufnahme), so zeigt es sich, daß die Energieaufnahme der Eiweißaufnahme im allgemeinen entsprechend liegt, nur Kind Fedtke hat bei einer dem Durchschnitt naheliegenden Eiweißaufnahme eine relativ geringe Energieaufnahme, und die Kinder Schalich, Hecke, Rahr sind bei einer mäßigen N-Aufnahme mit ihrer Energieaufnahme erheblich über den Durchschnitt hinausgegangen.

Es ist von Interesse, zu erfahren, wie sich bei den einzelnen Kindern beider Gruppen die Wärmezufuhr auf die drei Komponenten der Nahrung (Eiweiß, Fett, Kohlehydrate) verteilt, und wie sich in dieser Beziehung meine Versuchskinder zu denjenigen der früheren Autoren verhalten.

Gruppe 1.

Namen	Alter	Eiweiß	Fett	Kohleh.	Cal.	Gew.-Ver.
1. Heise Nr. 22 .	2 J. 9 M.	2,53 g	2,43 g	9,39 g	71,4	− 88 g
2. Schröder Nr. 31	3 J. 9 M.	2,73 „	2,75 „	10,34 „	79,1	+143 „
3. Fedtke Nr. 24	5 J. 2 M.	3,18 „	3,33 „	10,95 „	88,8	+ 87 „
4. Wenzel Nr. 6	4 J. 7 M.	2,62 „	3,28 „	11,67 „	89,1	+258 „
Im Durchschnitt:	4 J. 1 M.	2,77 g	2,95 g	10,59 g	82,1	+100 g

Gruppe 2.

1. Simon Nr. 25 .	8 J.	7 M.	3,03 g	4,83 g	13,79 g	110,3	+359 g
2. Schalich Nr. 5	5 J.	1 M.	3,41 „	3,96 „	14,73 „	111,2	+262 „
3. Hecke Nr. 10 .	3 J.	0 M.	3,69 „	4,86 „	12,41 „	111,3	− 61 „
4. Rahr Nr. 2 . .	5 J.	11 M.	3,47 „	4,30 „	14,06 „	112,9	+249 „
5. Malitzki Nr. 13	4 J.	4 M.	3,86 „	3,65 „	15,73 „	114,3	+262 „
6. Päschel Nr. 14	3 J.	3 M.	4,10 „	4,25 „	15,12 „	118,3	+ 69 „
7. Tinz Nr. 7 . .	5 J.	1 M.	3,91 „	5,56 „	13,73 „	124,0	+474 „
8. Winkler Nr. 12	6 J.	2 M.	4,26 „	4,10 „	17,21 „	126,2	+242 „
9. Harndt Nr. 8 .	4 J.	3 M.	4,22 „	5,84 „	14,66 „	131,8	+307 „
Im Durchschnitt:	4 J.	8 M.	3,87 g	4,51 g	14,94 g	117,7	+240 g

Zum Vergleich mit meinen Resultaten führe ich die Werte der früheren Autoren an:

	Eiweiß	Fett	Kohlehydrate	Cal.
1. Camerer.				
Mädchen (2.—4. J.)	3,6 g	3,1 g	9,2 g	81,2
„ (5.—7. J.)	3,0 „	1,8 „	11,0 „	74,5
Knabe (5.—6. J.)	3,5 „	2,6 „	10,9 „	83,2
2. Hasse.				
Mädchen (2½—3¼ J.) . . .	3,6 „	2,9 „	8,5 „	76,6
„ (3½ J.)	2,9 „	2,2 „	11,8 „	70,7
„ (4¾—5½ J.) . . .	3,8 „	3,5 „	10,2 „	90,0
3. Uffelmann.				
Knabe (2¼ J.)	4,1 „	3,0 „	8,8 „	80,8
„ (4¼ J.)	3,6 „	2,9 „	8,9 „	78,2
4. Baginsky.				
Knabe (3¼ J.)	4,5 „	4,6 „	11,8 „	109,0
„ (5 J.)	4,0 „	3,9 „	11,4 „	100,1
„ (5½ J.)	3,7 „	3,3 „	11,4 „	91,7
Mädchen (6 J.)	4,4 „	5,2 „	13,9 „	123,9
5. Herbst.				
Knabe (2 J. 3½ M.) . .	3,6 „	4,2 „	9,0 „	90,2
„ 4 J. 4 M.	3,8 „	3,8 „	9,0 „	87,0

Vergleiche ich zuerst die beiden Gruppen meiner Versuchskinder untereinander, so zeigt es sich, daß nicht ein besonderer

Nährstoff, sondern alle drei Hauptrepräsentanten der Nahrung in fast gleicher Weise an dem niedrigen resp. hohen Energiequotienten der Kinder beteiligt sind. Eine gewisse Sonderstellung nimmt nur das Fett ein insofern, als es bei Gruppe 2 (den Kindern mit erhöhter Energiezufuhr) die größte Steigerung erfährt und naturgemäß durch seinen hohen Energiewert ganz besonders den Energiequotienten vergrößert. Die Gewichtszunahme der Gruppe 2 ist im Durchschnitt eine wesentlich bessere als bei der 1. Gruppe. Die Werte der anderen Autoren liegen im allgemeinen den meinigen nahe, wenn sie auch untereinander sehr verschieden sind. Eine Gegenüberstellung der Werte gegen die meiner Versuchskinder läßt besondere Beziehungen nicht erkennen. Die geringste Zufuhr an Calorien überhaupt und an N im besonderen zeigt mein Versuchskind Heise (2,53 Eiweiß, 2,43 Fett, 9,39 Kohlehydrate und 71,4 Cal. pro Tag und kg). Das Kind hat dabei 0,04 g N retiniert, was dem durchschnittlichen Retentionswert entspricht, und 87,9 g an Gewicht abgenommen. Der wahre Nährstoffbedarf des Kindes berechnet sich, wie noch später auseinandergesetzt werden wird, auf 86,0 Cal. pro Tag und kg, hinter welchem das Kind tatsächlich um 14,6 Cal. zurückgeblieben ist. Es läßt sich deshalb bei diesem Kinde auch nicht von einem Minimum der notwendigen Nahrungsaufnahme sprechen. Den kleinsten Energiequotienten von allen Kindern überhaupt weist das 3½jährige Mädchen von Hasse auf, und zwar 2,9g Eiweiß, 2,2 g Fett, 11,8 g Kohlehydrate und 70,7 Cal. Eine Angabe, ob das Kind während des allerdings nur drei Tage dauernden Versuches an Gewicht zugenommen hat, findet sich bei Hasse nicht. Das Kind, das mit der geringsten Nahrungs- resp. Energieaufnahme auch eine gute Gewichtszunahme verbindet, ist mein Kind Schröder, welches 2,73 g Eiweiß, 2,75 g Fett, 10,3 g Kohlehydrate und 79,1 Cal. aufgenommen und dabei 143 g an Gewicht zugenommen hat. Für dieses Kind war diese geringe Nahrungsaufnahme eine vollkommen genügende, so daß hier vielleicht von einem Minimum der Nahrungszuführung die Rede sein kann, wenn es auch gewiß möglich ist, daß das Kind mit einer noch geringeren Nahrung gleichfalls gut gediehen wäre. Die Energieverwertung meiner Versuchskinder ist im allgemeinen eine gute, was aus der nachfolgenden Zusammenstellung hervorgeht. Ich habe auch hier wieder aus dem Gros der Kinder die beiden Gruppen mit relativ niedriger resp.

reichlicher Energieaufnahme zur besseren Orientierung abgesondert:

Gruppe 1. Kinder mit niedriger Energieaufnahme:

	Brennwert der Nahrung in Calor.	Brennwert des Resorbierten in Calor.		Im Körper verbrannte resp. angesetzte Energie in Calor.	
		absolut	in %	absolut	in %
1. Heise . .	71,4	66,8	93,5	63,1	88,4
2. Schröder .	79,1	73,8	93,9	70,0	88,5
3. Fedtke . .	88,8	83,2	93,7	78,9	88,9
4. Wenzel . .	89,1	84,3	94,6	80,0	89,8

Gruppe 2. Kinder mit reichlicher Energieaufnahme:

1. Simon . .	170,3	105,1	95,3	100,0	90,6
2. Schalich .	111,2	103,9	93,5	99,6	89,6
3. Hecke . .	111,3	105,6	94,9	100,9	90,7
4. Rahr . . .	112,9	106,1	94,0	101,5	89,9
5. Malitzki .	114,3	107,8	94,3	103,3	90,4
6. Päschel . .	118,3	112,7	95,3	107,6	90,9
7. Tinz . . .	124,0	119,0	95,9	112,9	91,0
8. Winkler .	126,2	117,8	93,4	112,8	89,4
9. Harndt . .	131,8	102,9	93,3	117,7	89,4

Es ist ersichtlich, daß die prozentuale Verwertung der mit der Nahrung aufgenommenen Energie bei beiden Gruppen sehr naheliegende Werte aufweist. So hat Kind Heise mit seiner niedrigen Energieaufnahme von 71,4 Cal. in gleich guter Weise gewirtschaftet, wie Kind Harndt mit seiner enormen Kraftzufuhr von 131,8 Cal., und bei den übrigen Kindern liegen die Verhältnisse durchaus analog. Der Energieverlust im Kot, wie im Urin ist ein sehr geringer, zum mindesten ist er z. B. bei den vier Kindern mit der höchsten Energiezufuhr nicht so gesteigert, daß er die Bilanz irgendwie beeinflussen könnte, wie folgende Zusammenstellung zeigt:

Gruppe 1.

	Energieverlust durch den Kot	Energieverlust durch den Urin
1. Heise . .	4,6	3,6
2. Schröder .	5,3	3,8
3. Fedtke . .	5,6	4,3
4. Wenzel .	4,8	4,3

Gruppe 2.

6. Päschel .	5,6	5,2
7. Tinz . . .	5,0	6,2
8. Winkler .	8,4	5,1
9. Harndt .	8,9	5,2

Der Verlust im Kot ist bei den Kindern Winkler und Harndt nicht unwesentlich größer als bei den übrigen Kindern, während der Verlust mit dem Urin bei Gruppe 2 durchweg etwas höher ist als bei Gruppe 1, aber, wie gesagt, die Differenzen sind sehr klein und kommen gegenüber den großen Werten der Energieaufnahme mit der Nahrung nicht in Betracht[1]). Wie sich bei so reichlich genährten Kindern der Stoffverlust durch die Atmung gestaltet, darüber geben Untersuchungen, welche ich in einem späteren Kapitel besprechen werde, mit ziemlicher Genauigkeit Aufschluß. Mögen die von mir gefundenen Werte für den Energiequotienten im 3.—6. Lebensjahre im allgemeinen auch zu hoch sein, sie zeigen jedenfalls, daß die Kinder dieser Altersklasse einen sehr regen Kraftwechsel haben, und stimmen gut überein mit den schönen Untersuchungen von Magnus-Levy (13a) über den Lungengaswechsel des Menschen in verschiedenen Altersstufen. Er hat nachgewiesen, daß der O_2-Verbrauch im frühen Kindesalter 1,3—2,7 mal so groß ist, wie bei Erwachsenen, und zwar um so größer, je jünger das Kind ist, mit Ausnahme des ersten Lebensalters, auf welches dieses Gesetz nicht zutrifft. Es scheint bei den Kindern ein Plus hinzuzukommen, welches in dem Lebensalter begründet ist, in einem lebhafteren Stoffwechsel der Zellen des jungen Individuums. Gegenüber dem Säugling kommt bei dem älteren Kinde die größere Beweglichkeit und der damit verbundene erhöhte Wärmeverbrauch hinzu, wenn es auch sehr fraglich ist, ob diese ja gewiß erheblich größere Regsamkeit allein zur Erklärung genügt, und ob nicht vielmehr ein „non liquet“ bestehen bleibt.

Besprechung der Tabelle III.

Ich habe in dieser Tabelle, wie erwähnt, den Versuch gemacht, eine Berechnung der zur einfachen Erhaltung des Körpers

[1]) Der Energieverlust im Kote meiner Versuchskinder liegt dem von Rubner (15e) angegebenen Werte (4,6) nahe, wenn er auch bei manchen Kindern etwas höher ist.

verbrauchten Energie mit Hilfe der Gewichtsveränderungen während der Versuchszeit aufzustellen, d. h. also der Energiemenge, welche die Kinder zur Erhaltung ihres Körperbestandes nach Abzug der im Kot und Urin verloren gegangenen und der zum Anwuchs verbrauchten Energie von der Gesamtkraftzufuhr verwandt haben. Die ganze Berechnung basiert naturgemäß auf der Richtigkeit der Gewichtsbestimmungen. Diese müssen tatsächliche, d. h. auf Gewebeansatz resp. -Verlust beruhende sein, und nicht mit Wasserabgabe resp. Retention in Zusammenhang stehen. Die Inszenierung der Versuche und die Handhabung der Wägungen gibt eine gute Gewähr, daß die Gefahr einer Täuschung nach Möglichkeit vermieden ist. Die Stuhlentleerungen der Kinder erfolgten regelmäßig täglich, so daß erhebliche, das Gewicht der Kinder beeinflussende Kotverhaltungen mit Sicherheit auszuschließen sind. Die Möglichkeit, daß ein Diätwechsel beim Beginn der Versuche Wasserretentionen resp. Abgaben (verschiedener ClNa-Gehalt der Speisen) zur Folge haben könnte, wurde durch die regelmäßigen Vorversuche mit ihrer völlig gleichen Ernährung beseitigt. Dazu bewegten die Kinder sich während der Versuchszeit frei umher, so daß Wasserverhaltungen im Körper, wie solche bei den in einem Liegeapparate fest eingespannten Säuglingen fast regelmäßig vorkommen, hier auch auszuschließen sind. Die Gewichtsbestimmungen wurden stets früh vor der ersten Mahlzeit vorgenommen und zwar auf einer geradezu idealen Wage, einer sogenannten Balkenwage, wie sie auf der Post im Gebrauch ist. Dieselbe war speziell für mich neu angefertigt und in der Weise umgeändert worden, daß die eine Schale eine längliche Form erhielt, so daß die Kinder auf derselben bequem sitzen konnten. Die Wage zeigte Belastungen von 0,5 g! noch deutlich an. Trotz aller dieser Vorsichtsmaßregeln sind bei einigen Kindern ganz erstaunliche Gewichtsveränderungen während der 6tägigen Versuchszeit vorgekommen, Differenzen, welche doch zu der Annahme führen, daß dieselben nicht lediglich auf Gewebeansatz resp. Einschmelzung beruhen, und ich bin mir bewußt, daß einige der mit der Wage festgestellten Gewichtsveränderungen quantitative Gewebsveränderungen nur vortäuschen, aber im großen und ganzen tritt sicher bei der großen Zahl der Wägungen ein genügender Ausgleich ein, so daß meine Einzelwerte sowohl, wie im besonderen mein Durch-

schnittswert der Wahrheit nahe kommen und für die Verallgemeinerung brauchbare Werte darstellen.

Der Berechnung des Nährstoffbedarfes wurden folgende allgemein bekannte Werte zugrunde gelegt. Mit Hilfe des bekannten Durchschnittsgehaltes von magerem Fleische an N (ich habe den von Schreuer (17) im Zuntzschen Laboratorium berechneten Wert von 3,3% angenommen) wurde der retinierte N in Fleisch umgerechnet, und nach Abzug der so gefundenen Fleischmenge von der Gewichtszunahme resp. -Abgabe während der Versuchszeit der Rest als Fettgewebe gerechnet.

Dieser Berechnung des Fettes haftet, wie schon angedeutet, gewiß eine große Unsicherheit an, und es muß für wahrscheinlich gehalten werden, daß es sich in einigen wenigen Fällen starker Gewichtsveränderung zum Teil um Verschiebungen im Wassergehalt des Körpers handelt. Bei der Umwertung des Fleisch- resp. Fettansatzes in die entsprechende Energie wurde (gleichfalls nach Schreuer) angenommen, daß 1 g N in fettfreiem Fleisch 34,3 Cal., und daß Fettgewebe (bei einem Wassergehalt von 10%) 8,5 Cal. repräsentieren. Auf Grund dieser Daten ließ sich dann leicht der wahre Nährstoffbedarf ausrechnen, wie sich aus der Tabelle bequem ersehen läßt. Betrachten wir nun die von mir gefundenen Werte, so beansprucht in erster Linie der Durchschnittswert sämtlicher Kinder unser Interesse, und zwar haben meine Versuchskinder von den 104 im Durchschnitt aufgenommenen Cal. 83 zur Erhaltung ihres Körpers verbraucht und dementsprechend 21 Cal. im Kot und Urin verloren resp. zum Anwuchs verwendet. Aus Tabelle II wissen wir die Energieverluste in Kot und Urin, so daß wir die für den Anwuchs verbleibende Energie berechnen können. Die Bilanz gestaltet sich danach folgendermaßen:

Kraftzufuhr		104 Cal.
Verlust durch Kot und Urin	(6 + 5 Cal.) =	11 „
Es standen dem Körper zur Verfügung		93 Cal.
Nährstoffbedarf		83 „
Es bleibt für den Ansatz		10 Cal.

Hier ist noch zu berücksichtigen, daß nach Kellner's (12) wichtigen Versuchen beim Stoffansatz stets auch der Umsatz steigt, d. h. daß die ersparten Cal. nicht der ganzen Menge nach

angesetzt werden. Wenn also bei einem Ansatz von 10 Cal. der Körper 83 Cal. verbraucht, würde er zur bloßen Erhaltung mit weniger als 83 Cal. ausgekommen sein. Der Überschuß kommt, weil er eine Verdauungs- und Assimilationsarbeit nötig macht, nicht mit seinem ganzen Energiewert zum Ansatz, sondern wir können mit Kellner von den N-haltigen etwa 71% und von den N-freien Stoffen etwa 90% als ansatzfähig betrachten. Diese Werte entsprechen auch ungefähr denjenigen von Zuntz, welche er mit Magnus-Levy für die Verdauungsarbeit berechnet hat. Danach würde sich mein Durchschnittswert für den Nährstoffbedarf von 83 Cal. noch um etwas erniedrigen, jedoch dürfte die Differenz nur unbedeutend sein. Berechne ich (wie bei der Besprechung der Kraftzufuhr im Anschlusse an die vorhergehende Tabelle Nr. 2) bei den Kindern mit einer mäßigen, d. h. der Norm entsprechenden Gewichtszunahme (Gruppe 2 der Zusammenstellung auf Seite 256) den Durchschnittswert für den Nährstoffbedarf, so erhalte ich folgende Zahl:

	Nährstoffbedarf in Cal.		Nährstoffbedarf in Cal.
Radünz	101	Cimanowski	76
Päschel	119	Moritz	106
Strauß	103	Schröder	53
Fedtke	71	Wagner	74
Lückmann	86	Waßenmüller	82

Durchschnitt aller Kinder: 87 Cal.

Der Wert ist naturgemäß etwas höher als der Durchschnitt aller Kinder, weil diese Kinder eben weniger angesetzt und deshalb mehr verbraucht haben. Vielleicht verdient er aber doch den Vorzug vor dem allgemeinen Mittelwert, weil die Entwicklung dieser Gruppe von Kindern mehr den normalen Verhältnissen entspricht.

Der von mir gefundene Wert von 83 resp. 87 Cal. als wahrer Nährstoffbedarf für Kinder im 3.—6. Lebensjahre ist zweifellos ein sehr hoher. Heubner (10) gibt für den Säugling im ersten Lebenshalbjahre einen solchen von 70 Cal. an, welchen Wert der von mir gefundene also um 14 resp. 17 Cal. übersteigt. Ich betone auch hier wieder, daß meine Untersuchungen keine Minimumwerte bringen. Es ist wohl anzunehmen daß meine Ver-

suchskinder auch mit einem geringeren Energiequotienten ausgekommen und gut gediehen wären, viel kleiner wäre er aber auch bei einer Beschränkung der Nahrung kaum gewesen. Wichtig ist es aber jedenfalls, zu wissen, daß Kinder im 3.—6. Lebensjahre einen sehr hohen Energiebedarf oder wenigstens Energieverbrauch für ihre gewöhnlichen Lebensfunktionen haben. Mein Wert entspricht im allgemeinen den Verhältnissen, in welchen sich das Kind in der Familie, in Pflegeanstalten aller Art und auch wohl in Krankenhäusern befindet, falls nicht besondere Erkrankungen die Ernährungsbedingungen verschieben. Soweit man bei der relativen Ungenauigkeit meiner Methode der Berechnung berechtigt ist, meine Werte zu verallgemeinern, so läßt sich aus ihnen schließen, daß das Kind im 3.—6. Lebensjahre einen höheren Nährstoffbedarf hat als der Säugling und als das Kind jenseits dieser Altersperiode. Für das ältere Kind fehlen mir eigene Beobachtungen, aber dieses Verhalten ist aus allen Untersuchungen der früheren Autoren (Camerer, Uffelmann, Hasse, Herbst) mit genügender Sicherheit zu schließen. Wie die Zusammenstellung der diesbezüglichen Versuchsresultate (siehe Seite 257 und 258) es deutlich zeigt, sinkt bei den Versuchskindern dieser Autoren die Energieaufnahme erst im 7.—10. Lebensjahre ganz erheblich, um sich derjenigen der Erwachsenen zu nähern. Nach allen bisherigen Versuchen scheint das Kind jenseits des Säuglingsalters doch gewissermaßen eine Sonderstellung einzunehmen, welche zum Teil in den diesem Alter eigenen Wachstums- und Stoffwechselbedingungen, zum Teil aber auch in der dem Kinde eigentümlichen großen Lebendigkeit und Beweglichkeit gegenüber dem Säugling wie dem Erwachsenen zu suchen ist. Wie früher bei der N-Bilanz, so sehen wir auch hier bei dem Kraftverbrauch, daß nur ein sehr kleiner Prozentsatz zum Anwuchs verbraucht wird; aber während der größte Teil des aufgenommenen N wieder im Kot und in der Hauptsache im Urin ausgeschieden wird, ist der Energieverlust durch die Exkrete ein minimaler. Die zugeführte Kraft wird zum größten Teil zur Erledigung der wichtigsten Lebensfunktionen verbraucht. Die Werte für den Nährstoffbedarf der einzelnen Kinder schwanken untereinander ziemlich erheblich. Man kann etwa von 20 Kindern sagen, daß ihre Werte dem Durchschnitt nahe liegen, bei den übrigen weichen sie doch erheblich nach oben und unten

ab, und zwar liegen sie bei acht Kindern weit über dem Mittelwert, während sie bei vier Kindern erheblich hinter demselben zurückbleiben. Es wird sich später bei der Besprechung der Verschiedenheiten im Appetit, Konstitution u. a. meiner Versuchskinder eine gewisse Erklärung für das abweichende Verhalten finden. Acht von den Kindern haben weniger Energie (nach Abzug der Verluste in Kot und Urin) zur Verfügung gehabt, als sie für die Erhaltung des Körpers nötig hatten, allerdings ist bei zwei von ihnen die Differenz so gering, daß von einem Energiegleichgewicht gesprochen werden kann.

Zwei Kinder (Loose Nr. 20 mit —17 Cal. und Hecke Nr. 10 mit —30 Cal.) sind wesentlich hinter dem Bedarf zurückgeblieben. Wie sich später zeigen wird, hatten diese beiden Kinder einen ausgesprochen schlechten Appetit.

Ich habe weiterhin, von dem Gedanken ausgehend, daß die Weite des Nährstoffverhältnisses einen Einfluß auf die N-Resorption und vielleicht auch auf die N-Retention ausüben könne, dieses Verhältnis berechnet und die Kinder nach der Weite desselben in drei Gruppen gesondert. Die Tabelle IV enthält diese Zusammenstellung. Gleichzeitig habe ich das Verhältnis von N zu Cal. im Kot, im Resorbierten und im Urin berücksichtigt.

Ein Vergleich der drei Gruppen zeigt, daß ein kausaler Zusammenhang zwischen Nährstoffverhältnis und N-Verdauung bei meinen Versuchskindern nicht vorhanden ist.

Die Werte für die N-Verdauung im Durchschnitt der drei Gruppen sind nahezu identisch. Die N-Verluste im Urin sind bei den drei Gruppen ebenfalls ähnliche, während die Werte für die N-Retention nicht unwesentliche Differenzen aufweisen. Diese sprechen jedoch nicht in einem Sinne. Immerhin bleibt es auffallend, daß die Gruppe mit dem weitesten Nährstoffverhältnis bei gleicher N-Aufnahme und Resorption pro Tag und kg am wenigsten N ansetzt, obgleich gerade in dieser Gruppe ein besonders großer Überschuß von Energie mit der Nahrung zugeführt wurde und auch dem Körper zur Verfügung stand. Dieser Überschuß an Energie beträgt im Durchschnitt bei den Kindern mit dem weitesten Nährverhältnis +23 Cal., bei denjenigen mit dem engsten +8 Cal., und bei den mit einem mittelweiten nur +1 Cal. Eine große Rolle für den Eiweißansatz spielt bekanntlich die vorangegangene Ernährung. Je mehr der Körper unter

seinem Normalbestande an Eiweiß steht, desto größer ist seine Tendenz zum Eiweißansatz und umgekehrt. Eine Untersuchung der Kinder der dritten Gruppe in dieser Hinsicht ergibt, daß sie im Mittel um 2,4 kg unter dem Durchschnittsgewicht ihres Alters stehen, während Gruppe 1 nur um 1,2 und Gruppe 2 um 1,9 kg zurückbleibt. Gruppe 3 umfaßt danach die dem Gewicht nach am meisten rückständigen Kinder. Wir können also auch aus dem Ernährungszustande den besonders geringen Eiweißansatz dieser Kinder nicht erklären, und es wird einigermaßen wahrscheinlich, daß ein Nährverhältnis von 1:7 bei Kindern dieses Alters für maximalen Eiweißansatz zu weit ist. Ehe man eine derartige Behauptung (angesichts des noch viel weiteren Nährverhältnisses in der Menschenmilch) für erwiesen ansehen kann, muß eine größere Reihe von Versuchen ad hoc angestellt werden.

Meine Versuchskinder haben in der Nahrung auf 1 g N 172 Cal. als Minimum, 213 Cal. als Maximum aufgenommen und im Durchschnitt aller Kinder 187,4 Cal. Im Kote wird das Verhältnis von N zu Cal. ein engeres, hier werden auf 1 g N nur etwa die Hälfte Cal. ausgeschieden, im Durchschnitt ist das Verhältnis 1 : 84,7 Cal. Es ist bei den drei Gruppen ein nahezu gleiches, wenn auch natürlich bei den einzelnen Kindern Unterschiede vorhanden sind. Dieses relativ enge Verhältnis von N zu Cal. im Kot bedingt naturgemäß ein weiteres bei den resorbierten Mengen infolge einer reichlicheren Aufnahme N-freier Nährstoffe in den Körper; im Durchschnitt ist dasselbe 1 : 202,3. Die Werte der einzelnen Gruppen gehen parallel dem Nährstoffverhältnisse, in dem sie immer weiter werden. Der sogenannte calorische Quotient im Urin (Tangl [20]) ist bei den drei Gruppen nahezu der gleiche. Im Durchschnitte aller Kinder ist das Verhältnis so, daß auf 1 g N 10,4 Cal. als Brennwert nicht ganz abgebauter Substanzen dem Körper verloren gegangen sind. Die Werte sind im allgemeinen recht gleichmäßig, schwanken jedoch zwischen dem engsten Verhältnis von 1 : 8,7 Cal. bei Rodewald (Kind Nr. 19) und dem weitesten von 1 : 13,9 bei Wenzel (Kind Nr. 6). Bei diesem Kinde erklärt sich der auffallend weite Wert wohl dadurch, daß schon in der Nahrung das Nährstoffverhältnis ein sehr weites ist, und zwar das weiteste von allen Kindern. Dazu kommt, daß die N-Abgabe im Urin pro Tag und kg mit dem Wert von 0,306 g die überhaupt geringste sämtlicher Kinder ist.

Die im Verhältnis zur N-Aufnahme sehr hohe Energiezufuhr in der Nahrung hat wohl zur Folge gehabt, daß auch im Urin eine relativ reichliche Menge von Substanzen ausgeschieden worden sind, welche einen höheren Brennwert als Harnstoff besitzen. Bei Rodewald ist eine derartige Beziehung nicht zu erkennen. Das Nährstoffverhältnis ist ein mittelweites, während eigentlich ein sehr enges zu erwarten wäre. Sehr niedrig ist der Energieverlust im Kot und im Urin gegenüber einem mittleren N-Verlust in beiden.

Vergleiche ich meine Werte des calorischen Quotienten mit denjenigen früherer Autoren, so ergibt sich, daß mein Durchschnittswert von 1 : 10,4 gut mit den von Tangl (20) für Erwachsene angegebenen übereinstimmt. Dieser fand, daß bei reichlicher Fettnahrung der calorische Quotient im Urin ein engerer ist als bei vorwiegender Kohlehydraternährung, während Arbeit und Ruhe keine deutliche Beeinflussung erkennen ließen. Die Werte von Tangl sind:

1 : 8,59—9,63 bei Fettnahrung und
1 : 11,5—11,9 bei Kohlehydratnahrung.

Mein Wert liegt in der Mitte und entspricht der meinen Versuchskindern gereichten gemischten Nahrung, in welcher weder Fett noch Kohlehydrate einseitig bevorzugt waren. Ein Unterschied zwischen der Altersklasse meiner Versuchskinder und Erwachsenen läßt sich aus meinen Versuchen nicht erkennen. Im Vergleich zu den bei Säuglingen gefundenen Werten ist der calorische Quotient hier im allgemeinen ein etwas weiterer. Rubner (15) fand bei einem mit Kuhmilch ernährten Säugling ein Verhältnis von 1 : 6,93, Cronheim und Müller (7) ein solches von 1 : 5,84—11,3 Cal.

Stelle ich die drei Kinder mit den engsten Nährstoffverhältnissen denjenigen mit den weitesten gegenüber, so zeigt es sich, daß eindeutige und gleichmäßige Beziehungen zwischen Nährstoffverhältnis einerseits und dem calorischen Quotienten im Kot und Urin andrerseits nicht vorhanden sind.

Gruppe 1. Kinder mit engem Nährstoffverhältnisse.

	Nahrung	Kot	Urin
1. Eibert Nr. 27 . .	1 : 171,6	1 : 95,7	1 : 11,3
2. Fedtke Nr. 24 . . .	1 : 174,1	1 : 80,0	1 : 9,6
3. Neumann Nr. 29 .	1 : 174,3	1 : 101,7	1 : 10,0

Gruppe 2. Kinder mit weitem Nährstoffverhältnisse.

1. Lieberknecht Nr. 4	1 : 211,5	1 : 95,0	1 : 9,7
2. Wenzel Nr. 6 . . .	1 : 212,1	1 : 80,0	1 : 13,9
3. Götschkes Nr. 1 .	1 : 213,0	1 : 80,0	1 : 9,7

Das Wichtige der hier durchgeführten Berechnung ist die exakte Feststellung, daß Kinder im 3.—6. Lebensjahre bei einer reichlichen und gemischten Diät im Durchschnitt:

mit der Nahrung	auf 1 g N	187,4	Cal.	aufnehmen,
im Kot	„ 1 g N	84,7	„	verlieren und
im Urin	„ 1 g N	10,4	„	ausscheiden.

Es war möglich, daß auch in der beschränkten Lebensperiode meiner Versuchskinder das Alter einen Einfluß auf den Stoffwechsel ausüben konnte, ich habe deshalb in Tabelle V die Kinder nach ihrem Alter in vier Gruppen geordnet und die Durchschnittswerte für den Stoffwechsel berechnet.

Das Mittelgewicht meiner Versuchskinder in den einzelnen Lebensjahren ist nicht unerheblich geringer als das Normalgewicht für gleichaltrige Kinder, z. B. nach der Aufstellung von Heubner in seinem neuen Lehrbuch. Ich habe in dem Protokoll über die Versuchsergebnisse die Normalwerte in Klammern meinen Durchschnittsgewichten beigefügt. Die vorkommenden Differenzen betragen danach ca. 2—4 kg, so daß mein Versuchsmaterial zum Teil als rückständig mit Bezug auf das Gewicht anzusehen ist. Ich möchte noch bemerken, daß die von mir hier angegebenen Normalwerte einmal für Knaben und Mädchen zusammen und dann für die Mitte des entsprechenden Lebensjahres umgerechnet worden sind. Die Werte für die N-Aufnahme liegen bei allen vier Gruppen sehr gleichmäßig, und diejenigen für die N-Resorption sind durchaus analoge. Bei der N-Retention fällt allein der gegenüber den anderen Gruppen doch auffallend kleine Wert von 0,02 g im sechsten Lebensjahre auf. Dies würde einen geringeren Fleischansatz bedeuten, aber dieses Ergebnis verliert sehr an Bedeutung, da die N-Retention nicht eine von Gruppe zu Gruppe sinkende ist, sondern z. B. im fünften Lebensjahre eine bessere ist als im dritten und vierten Lebensjahre. Dazu kommt, daß zu der sechsten Gruppe gerade das Kind Lieberknecht gehört, welches allein von

allen Kindern eine wesentliche N-Abgabe aufweist. Etwas anders liegen die Verhältnisse bei der Energie. Hier finden wir sowohl bei der Aufnahme, wie bei der Resorption und bei den im Körper verbrannten resp. angesetzten Cal. eine geringe, aber doch konstante Steigerung von Lebensjahr zu Lebensjahr. Von der Annahme ausgehend, daß der Energiequotient von Jahr zu Jahr, je mehr sich das Kind dem Alter des Erwachsenen nähert, ein kleinerer wird, wäre das Umgekehrte zu erwarten gewesen, aber gerade die entgegengesetzte Beobachtung bei meinen Versuchskindern führt zu dem Schlusse, daß im Kindesalter jenseits der Säuglingsperiode noch ein besonderes Moment hinzukommen muß, welches den Appetit und damit die Nahrungsaufnahme erhöht. Aus den Gewichtszunahmen der einzelnen Gruppen läßt sich wenig schließen, die Versuchsdauer ist zu kurz, auffallend ist nur, daß die Zunahme der älteren Kinder eine bessere ist als bei den jüngeren. Demgegenüber ist, was ja zum Teil mit der relativen Abnahme der Körperoberfläche in engem Zusammenhange steht, der Energieverbrauch zur Erhaltung des Körpers bei den älteren Kindern ein geringerer, als bei den jüngeren. Ein fortlaufendes Absinken dieses Wertes von Gruppe zu Gruppe ist jedoch nicht zu bemerken. Immerhin wichtig ist das Ergebnis, daß die Kinder im dritten und vierten Lebensjahre einen niederen Energiequotienten haben als die im fünften und sechsten Lebensjahre, dabei ist ihr Energieverbrauch zur Erhaltung des Körpers ein relativ hoher, ihre Gewichtszunahme dementsprechend eine geringe. Anders die Kinder im fünften und sechsten Lebensjahre. Sie verbinden mit einer verhältnismäßig großen Energieaufnahme pro Kilogramm einen kleineren wahren Nährstoffbedarf und eine bessere Gewichtszunahme. Eine interessante Änderung des Stoffansatzes mit den Jahren tritt uns entgegen, wenn wir den Ansatz des N resp. Eiweiß mit dem gesamten Energieansatz vergleichen. Im dritten Lebensjahre haben wir einen erheblichen N-Ansatz, trotzdem der Körper an Energie verliert, also erheblich Fett abgibt. Im vierten Lebensjahre macht der Energiewert des angesetzten Eiweiß 47 % der gesamten angesetzten Energie aus, im fünften Lebensjahre nur noch 11 % und im sechsten Lebensjahre nähert er sich mit dem Werte von 4 % dem Verhältnis des Stoffansatzes des Erwachsenen bei reichlicher Ernährung.

Ein weiterer Gesichtspunkt für die Betrachtung des Stoffwechsels meines Versuchsmateriales ist, die Kinder nach dem Geschlecht zu trennen. Ich habe diese Gruppierung in der Tabelle VI durchgeführt.

Mein Untersuchungsmaterial verteilt sich danach auf 23 Knaben und 9 Mädchen. Das Durchschnittsalter der Knaben ist ein etwas größeres als das der Mädchen, und zwar um 8 Monate, was natürlich auf einem Zufall beruht. Das Mittelgewicht ist um 0,866 kg größer, was etwa dem Altersunterschied entsprechen dürfte, so daß eine Differenz durch das Geschlecht an sich nicht recht hervortritt. Ein Vergleich der beiden Gruppen in vorliegender Tabelle zeigt, daß der Stoffwechsel der Knaben ein regerer ist als derjenige der Mädchen. Die Unterschiede sind gering, aber in allen Phasen des Stoffwechsels gleichmäßig zugunsten der Knaben, und durch diese Gesetzmäßigkeit von Bedeutung. Die Knaben haben sowohl etwas mehr N, als auch Gesamtenergie mit der Nahrung in den Körper aufgenommen, resorbiert und retiniert resp. angesetzt oder verbrannt. Dabei ist der Verlust in den Exkreten gleichfalls ein größerer, aber trotzdem ist das schließliche Resultat bei dem Ansatz, wie gesagt, für die Knaben ein günstigeres, sowohl für die N-, wie für die Energiebilanz. Die Gewichtsveränderung der Knaben während der Versuchszeit zeigt gleichfalls ein kleines Plus von 58 g gegenüber den Mädchen; man sollte dementsprechend eigentlich erwarten, daß dieselben etwas weniger Energie für die Erhaltung ihres Körpers verbraucht haben, aber das ist nicht der Fall. Die Knaben haben im Gegenteil im Durchschnitt 13 Cal. mehr verbraucht als die Mädchen. Daß die Knaben trotz ihrer besseren Zunahme dieses Plus von Energieverbrauch aufweisen, gibt dem Befunde eine größere Bedeutung. Die Erklärung für den Mehrverbrauch bei den Knaben ist wohl in der größeren Lebendigkeit und den größeren Arbeitsleistungen der Knaben (insbesondere der älteren) zu finden. Die eben besprochenen Differenzen sind im übrigen bekannt. Camerer hat in seiner Monographie den Stoffwechsel seiner Kinder zum Teil getrennt nach dem Geschlecht besprochen und ist zu dem gleichen Resultat gekommen. Wenn ich trotzdem bei der weiteren Besprechung meiner Kinder eine derartige Trennung im allgemeinen nicht durchführe, so geschieht es, um bei der späteren Gruppierung nach anderen Ge-

sichtspunkten nicht mit allzu kleinen Zahlen operieren zu müssen. Natürlich habe ich bei meinen Betrachtungen die Geschlechtsunterschiede nicht aus den Augen verloren.

Ich gehe jetzt zur Besprechung des Einflusses der früher genannten Eigenschaften auf den Stoffwechsel meiner Versuchskinder über.

In Tabelle 7 und den nachfolgenden 5 Tabellen (8—11) sind die Kinder nach diesen Eigenschaften gruppiert in der Hoffnung, auf diese Weise vielleicht Aufklärung zu erhalten über die Besonderheiten im Stoffwechsel einiger Kinder, wie solche unsere Tabelle Nr. 2 zeigt. Die Eigenschaften, von welchen ich annehmen zu können glaubte, daß sie einen Einfluß auf den Haushaltsetat des Kindes auszuüben vermöchten, sind: 1. der Appetit, 2. die allgemeine, körperliche Konstitution, 3. das Temperament und 4. der Schlaf. Bei Aufstellung der V. Tabelle (Nr. 11) bin ich so verfahren, daß Konstitution und Temperament für die Gruppierung maßgebend sind. Ich habe in den einzelnen Tabellen Kinder mit gutem, solchen mit schlechtem Appetit; dünne, zarte Kinder dicken und wohlgenährten; lebhafte und unruhige Kinder schwerfälligen und ruhigen, und schließlich die Kinder mit einem ruhigen und gesunden Schlaf solchen gegenübergestellt, welche nachts öfters aufwachten und durch allerlei Unruhen um ihren ungestörten Schlaf kamen. Jede Tabelle enthält drei Gruppen, und zwar umfassen Gruppe 1 und 2 die Kinder, welche die betreffende Eigenschaft in ausgesprochenem Maße darbieten (z. B. beim Appetit die Kinder mit ausgesprochen gutem resp. schlechtem Appetit,) während in der dritten Gruppe alle die Kinder vereinigt wurden, bei welchen ein Zweifel darüber bestand, ob sie der jeweiligen ersten oder zweiten Gruppe zuzurechnen waren. Die Aufstellung dieser dritten Gruppe, d. h. sozusagen die Ausscheidung aller zweifelhaften Kinder schien mir der beste Weg, um feststellen zu können, ob eine der erwähnten Eigenschaften einen Einfluß auf den Stoffwechsel der Kinder ausgeübt habe. Die Beurteilung dieser verschiedenen Qualitäten der Kinder geschah gemeinsam von seiten der zuständigen Schwester, meinem Assistenten und mir, so daß das Urteil von der dabei gewiß leicht möglichen Subjektivität nach Möglichkeit frei ist; dazu wurde es während der Versuche selbst gefällt, also zu einer Zeit, wo die Versuchsresultate naturgemäß noch vollkommen unbekannt

waren. Ich komme nun zu der Besprechung der einzelnen Tabellen:

Erste Tabelle (Kinder nach dem Appetit geordnet) Nr. 7 (siehe diese). Von meinen 32 Versuchskindern haben 17 einen guten und nur vier einen schlechten Appetit gehabt, bei den übrigen 11 war, wie gesagt, die Beurteilung zweifelhaft, sie scheiden aus der Betrachtung aus. Leider ist die zweite Gruppe gegenüber der ersten sehr klein ausgefallen, was die Verwertung jener beeinträchtigt. Bei der N-Aufnahme tritt ein Einfluß des Appetites eigentümlicherweise nicht sehr deutlich in Erscheinung, das Übergewicht der ersten Gruppe von 0,03 g ist klein, während die Differenz in der Energieaufnahme eine größere ist. Im Durchschnitt haben die Kinder mit gutem Appetit 9 Cal. pro Tag und kg mehr aufgenommen als die schlechten Esser, aber der Unterschied ist doch auch hier ein erstaunlich geringer. Bei näherer Betrachtung der N-Aufnahme und im besonderen des Energiequotienten bei einzelnen Kindern beider Gruppen sind die Mißverhältnisse im Vergleich zu dem Appetit, welchen die Kinder zeigten, ganz außerordentliche. Von den sechs Kindern mit einer den Durchschnitt erheblich überschreitenden N-Aufnahme (siehe Tabelle 2) sind nur vier unter der Gruppe der guten Esser zu finden, und im Gegensatze dazu hat kein einziges der drei Kinder mit einer auffallend geringen N-Aufnahme einen direkt schlechten Appetit gezeigt. Vielleicht ist die Beurteilung des Appetites hin und wieder zu sehr nach der Aufnahme der Mittagkost und des Brotes getroffen und der Konsum von Milch dabei nicht immer gebührend berücksichtigt worden. Der Anteil des Eiweißes an der Gesamtnahrung ist augenscheinlich so gering (bei meinen Versuchskindern ist das Nährstoffverhältnis 1 : 6,2 nach Tabelle 1), daß nur bei einer sehr großen Differenz in der Gesamtnahrungsaufnahme auch ein Unterschied in der Eiweißaufnahme deutlich hervortritt, und die Differenz bei meinen Versuchskindern von 9 Cal. ist dafür eben zu klein. Noch widerspruchsvoller liegen, wie gesagt, die Beziehungen zwischen Appetit und Energiezufuhr. So haben einzelne Kinder mit einem anscheinend durchaus regen Appetit Energiequotienten, welche weit unter dem Durchschnitt liegen, wie Marzyski Nr. 32 mit 94,6, Landwehr Nr. 30 mit 96,4, Cimanowski Nr. 18 mit; 95,5 und besonders Fedtke Nr. 24 mit seinem sehr niedrigen Wert von 88,8 Cal. Demgegenüber hat

Hecke Nr. 10, welcher uns durch seine mangelhafte Eßlust direkt auffiel, den außergewöhnlichen Energiequotienten von 111,3 Cal. Dieses Mißverhältnis ist nur dadurch einigermaßen zu erklären, daß manche Kinder, welche uns durch ihren guten resp. schlechten Appetit imponierten, durch die reichliche Aufnahme von calorisch hochwertigen resp. minderwertigen Nahrungsstoffen uns gewissermaßen die Anomalien in der Quantität der Nahrungsaufnahme vortäuschten. Im großen und ganzen haben aber doch, wie es schon die Durchschnittsberechnung ergibt, die Kinder der ersten Gruppe einen höheren Energiequotienten als die der zweiten Gruppe. Die Verluste im Kot liegen analog, sie sind bei der Gruppe 1 etwas höher als bei Gruppe 2, aber nicht groß genug, um die Verhältnisse bei der Verdauung wesentlich zu verschieben. Die Werte der N-Resorption bleiben entsprechend verschieden (Differenz 2 cg), und die Differenz für die Energie bleibt bei 9 Cal. bestehen. Ich hatte eigentlich erwartet, daß die Kinder mit einem guten Appetite wesentlich bessere Resorptionsverhältnisse zeigen würden, daß der Appetit, der mächtige Erreger des Magensaftes nach den Versuchen von Pawlow, eine bessere Nahrungs-Resorption bewirken würde. Das ist jedoch bei meinen Versuchskindern nicht der Fall. Der N- wie der Energieverlust mit dem Kote ist bei beiden Gruppen nahezu der gleiche, und infolgedessen liegen die Werte für die Resorption einander nahe. Verfolgen wir die Bilanz weiter, so zeigt es sich, daß der N-Gehalt, wie der Energiewert des Urins beider Gruppen absolut identisch ist, und daß die Werte für die Retention denjenigen der Aufnahme und der Resorption entsprechende sind, d. h. bei Gruppe 1 etwas bessere sind, aber ein durchgreifender Unterschied im Stoffwechsel der gut und der schlecht essenden Kinder läßt sich nicht recht erkennen. Dieses Ergebnis ist ein immerhin sehr überraschendes. Anders liegen die Verhältnisse bei der Gewichtsveränderung. Während die Kinder mit gutem Appetit sämtlich an Gewicht zugenommen haben, ist bei denjenigen mit schlechtem Appetit durchweg ein Gewichtsverlust eingetreten, und zwar sind die entsprechenden Werte +239 g und —56 g, Dieser Unterschied läßt sich aus der geringen Differenz in den resorbierten Nahrungsmengen nicht erklären. Es zeigt sich ja auch, daß die Kinder mit schlechtem Appetit wesentlich mehr Energie zur Erhaltung des Körpers verbraucht haben als die

guten Esser und zwar 102 Cal. gegenüber 81 Cal. Wie dieses merkwürdige Verhältnis zu erklären ist, und ob es sich hier um eine allgemein gültige Regel handelt, müssen spätere Untersuchungen ergeben. Zur Vervollständigung möchte ich noch erwähnen, daß bei Gruppe 1 alle Kinder mehr Cal. zur Verfügung haben, als sie zur Erhaltung ihres Körperbestandes nötig hatten, wogegen in der zweiten Gruppe sämtliche Kinder mit einem (sozusagen) Minus gearbeitet haben. Das Endresultat der Stoffwechselbilanz spricht jedenfalls durchaus und gleichmäßig zugunsten der ersten Gruppe, wenn es auch von vornherein schwierig ist, eine genügende Erklärung für dieses Ergebnis zu finden, nachdem die vor allem erwartete günstige Beeinflussung der Resorption ausgeblieben ist. Das schließlich so günstige Ergebnis für meine guten Esser, wie es sich in der hervorragenden Gewichtszunahme kundgibt, ist um so bemerkenswerter, als die tatsächliche Mehraufnahme mit der Nahrung, wie oben auseinandergesetzt, eine geringfügige ist, und damit die gute Verwertung der Nahrung in diesem Sinne um so mehr hervortritt. Es ist klar und durch physiologische Experimente (Pawlow) genügend erwiesen, daß es von großer Bedeutung für die Verdauung ist, daß die Mahlzeiten mit gutem Appetit eingenommen werden, daß das Kind, sozusagen, nicht nur überhaupt genügend ißt, sondern daß es auch das, was es zu sich nimmt, mit Appetit genießt; aber es ist gewiß bedenklich und schwierig, sich einen Einfluß des Appetites auf die Vorgänge jenseits der Resorption (den sogenannten inneren Stoffwechsel) vorzustellen. Es erscheint mir naheliegender, an eine gewisse Minderwertigkeit im allgemeinen bei den Kindern der zweiten Gruppe zu denken, und sich vorzustellen, daß diese Kinder an ihrem ganzen Zellstaat, sozusagen, geschwächt sind und deshalb einen weniger günstigen Stoffumsatz aufweisen. Damit stimmt es auch gut überein, daß tatsächlich die Kinder mit dem schlechten Appetit auch zu denjenigen unter meinen Versuchskindern gehören, welche dem Gewicht nach am meisten hinter der Norm zurückstehen. Der hohe Kraftverbrauch der Kinder mit schlechtem Appetit für die Erhaltung des Körpers (102 Cal.) ist wohl zum Teil dadurch vorgetäuscht, daß bei mangelhafter Ernährung nicht nur Fett, sondern auch das pro Gramm Gewichtsverlust nur etwa 1 Cal. repräsentierende wasserhaltige Glykogen verbraucht wird.

Die zweite Eigenschaft, von welcher ich mir einen Einfluß auf den Stoffwechsel und damit eine Erklärung für gewisse Differenzen desselben versprach, war die Konstitution meiner Versuchskinder.

Es war von vornherein wahrscheinlich, daß bei der hier vorgenommenen Scheidung der Kinder ein Unterschied in ihrem Stoffwechsel, in der Ausnützung der Nahrung sich ergeben würde. Daß trotz gleicher Nahrungsaufnahme die einen Kinder nicht zum Gewebe- resp. Fettansatz neigen, während die anderen sich einer guten Zunahme, besonders eines reichlichen Fettpolsters erfreuen, ist eine alte Erfahrungstatsache. Die Verschiedenheit in der Konstitution prägt sich naturgemäß zuerst in dem Gewicht der Kinder aus, und zwar wiegen die dünnen im Durchschnitt 12,3 kg, die dicken 13,5 kg. Bei der Nahrungsaufnahme zeigt sich zuerst ein kleiner Unterschied. Gruppe 1 nimmt sowohl etwas mehr N als auch Gesamtenergie auf. Das Plus ist, wiegesagt, gering (+0,05 g N und +9,3 Cal.), aber in Anbetracht des weiteren Verlaufes der ganzen Bilanz ist es von Interesse, daß die Aufnahme pro Tag und kg bei den dünnen und zarten Kindern eine etwas günstigere ist als bei den dicken Kindern. Die Werte für die Resorption liegen den Aufnahmewerten analog, da die Verluste im Kot bei beiden Gruppen durchaus identisch sind. Die Ausscheidung im Urin führt jedoch eine Umkehr der Verhältnisse beim N herbei, da die dünnen Kinder 0,07 g N mehr im Urin verlieren als die dicken, und so schließlich etwas weniger N retinieren (—0,02 g) als die letzteren. Es findet also eine vollkommene Umkehr der N-Bilanz zu Ungunsten der dünnen Kinder statt. Bei der Energie bleiben sich die Werte während der ganzen Bilanz gleich; Gruppe 1 nimmt mehr Energie auf, und schließlich überwiegen auch die dem Körper zur Verbrennung resp. zum Ansatz verbleibenden Cal. bei dieser Gruppe. Trotzdem ist die Gewichtszunahme bei der ersten Gruppe eine weit geringere als bei der zweiten; die dünnen Kinder haben erheblich mehr Energie zur Körpererhaltung (+13 Cal.) verbraucht als ihre wohlbeleibten Genossen. Die Differenz zwischen beiden Gruppen ist eine bedeutende, so daß ein Zufall auszuschließen ist. Das Minus am Ansatz bei den dünnen Kindern ist so groß, daß es in der Hauptsache als ein Mangel an Fettansatz gedeutet werden muß, einen geringen An-

teil nimmt jedoch auch ein Minus an Fleischansatz. Es ist eine häufig in der Praxis wiederkehrende Erscheinung, daß Eltern den Arzt aufsuchen, weil das eine ihrer Kinder, obgleich es augenscheinlich ebensoviel ißt, wie seine Geschwister, hinter diesen in der Entwicklung zurücksteht und dünn und zart bleibt. Es ist gewiß von Interesse, von dem Stoffwechsel solcher Kinder durch diese Aufstellung einer exakten Bilanz eine Vorstellung zu bekommen. Die Nahrungsaufnahme dieser Kinder ist tatsächlich eine gute (bei mir sogar eine bessere als die der dicken Kinder), und gleich gut ist die Resorption der aufgenommenen Nahrung; erst jenseits der Resorption, erst im inneren Stoffwechsel tritt der Umschwung zuungunsten der dünnen Kinder ein, was sich durch eine größere N-Ausscheidung im Urin und eine entsprechend geringere N-Retention kundgibt, noch deutlicher aber durch den hohen Energieverbrauch für die einfache Erhaltung des Körpers in Erscheinung tritt (89 Cal. bei Gruppe 1 gegenüber 76 Cal. bei Gruppe 2, d. i. ein Mehrverbrauch von 13 Cal. pro Tag und kg). Das dünne, zarte Kind ist sozusagen ein schlechter Wirtschafter in seinem körperlichen Haushalt, es verbraucht sehr viel für seinen Körper und legt wenig zurück, während das dicke Kind mit einem sparsamen Energieverbrauch eine ansehnliche Kraftablagerung in seinem Körper verbindet. Für die Praxis ergibt sich daraus die Lehre, daß die Ernährung dieser dünnen Kinder reichlicher zu gestalten ist, da ihr Organismus mehr verbraucht, zum Teil wohl deshalb, weil der gegen Wärmeverluste schlechter geschützte magere Körper mehr Wärme produzieren muß, schließlich vielleicht infolge einer allgemeinen Minderwertigkeit der Zellen des ganzen Körpers.

Ein weiterer Unterschied im Wesen meiner Versuchskinder war im Temperament, s. Tabelle IX, ob lebhaft oder ruhig, gegeben. In erster Linie zeigt sich ein Einfluß auf das Gewicht der Kinder. Bei gleichem Alter wiegen die lebhaften etwas weniger als die ruhigen. Die Werte für die Aufnahme und die Resorption von N und Kraft liegen bei beiden Gruppen sehr nahe oder sind identisch. Im Urin tritt mit Bezug auf den N eine Wendung zu gunsten der phlegmatischen Kinder ein, indem diese etwas weniger N ausscheiden als die lebhaften Genossen, wogegen der Brennwert des Urins bei beiden Gruppen nahezu derselbe ist. Bei der Retention tritt dieser Umschwung noch deutlicher her-

vor; der Wert für den N-Ansatz ist bei Gruppe 2 ein doppelt so hoher (0,06 g) als bei Gruppe 1 (0,03 g), während auch hier die Werte für die Energie sehr ähnliche sind. Diese verdoppelte N-Retention der ruhigen Kinder ist um so bemerkenswerter, als die N-Aufnahme beider Gruppen die gleiche ist. In gleichem Sinne verschieden ist die Gewichtsveränderung; die lebhaften Kinder haben einen ganz erheblich geringeren Anwuchs zu verzeichnen als die ruhigen. Dementsprechend ist auch ein größerer Energieverbrauch zur Erhaltung des Körpers bei den lebhaften Kindern zu verzeichnen gegenüber den phlegmatischen, und zwar von 92 gegenüber 81 Cal. Wie erwartet, hat die größere Beweglichkeit der ersteren einen höheren Kraftverbrauch erfordert. Auch die Wasserverdampfung durch die Haut ist, worauf ich noch später zurückkommen werde, bei ihnen eine lebhaftere. Diese Tabelle gewährt uns einen klaren und eindeutigen Einblick in den Kraftwechsel von Kindern verschiedenen Temperaments.

In der Tabelle X ist das Verhalten des Schlafes die Grundlage für die Gruppierung der Kinder. Im allgemeinen haben meine Versuchskinder gut und ruhig geschlafen, nur wenige (3 von 32) waren nachts unruhig, wachten öfters auf und fielen dadurch der Nachtwache auf. Bei einer so kleinen Gruppe treten naturgemäß individuelle Einflüsse auch bei einer Durchschnittsberechnung stark hervor und beeinträchtigen eventuelle Schlußfolgerungen bei einer Gegenüberstellung erheblich. Die N-Bilanz der beiden ersten Gruppen ist nahezu identisch, und ebenso sind die in den Körper aufgenommenen und die im Körper verbrannten resp. angesetzten Cal. bei beiden Gruppen fast die gleichen, jedenfalls sind sie auch bei Gruppe 2 dieselben wie bei den übrigen Kindern. Ein deutlicher Unterschied findet sich erst bei der Gewichtsveränderung, und zwar zugunsten eines guten und ruhigen Schlafes. Allerdings haben auch von den drei Kindern der zweiten Gruppe zwei eine Gewichtsvermehrung aufzuweisen, und zwar das eine Kind (Struß) eine sehr bedeutende, so daß es nicht möglich ist, schlechte Gewichtszunahme und schlechten Schlaf in kausale Beziehung zu bringen. Dem geringeren Anwuchs dieser Kinder entspricht der etwas größere Energieverbrauch. Es liegt wohl an der kurzen Dauer meiner Versuche, daß speziell das Verhalten des Schlafes nicht in der zu erwartenden Weise zum Ausdruck kommt.

Ich komme schließlich, wie schon angedeutet, zu der letzten der fünf Gruppierungen nach dem Wesen meiner Versuchskinder, welche in Tabelle XI durchgeführt ist.

Die Einteilung in dieser Tabelle stellt sozusagen eine Kombination der beiden Tabellen VIII und IX dar. Es erschien interessant, zu sehen, in welcher Weise Konstitution und Temperament in ihrer Summierung den Stoffwechsel beeinflussen würden. Andrerseits war es auch klar, daß die Zusammenfassung von zwei Eigenschaften für die Aufstellung einer Gruppe es mit sich bringen mußte, daß der Einfluß der einzelnen Eigenschaften nicht recht zur Geltung kam, vielmehr unter Umständen verwischt wurde. Die Gruppierung der Kinder ergibt sich aus der Tabelle von selbst. Bei Betrachtung der Nahrungsaufnahme zeigt es sich, daß die Gruppe 4 der dicken und ruhigen Kinder sowohl in der N-, wie in der Energieaufnahme hinter den übrigen Gruppen nicht unwesentlich zurückbleibt, und daß andrerseits die dünnen und lebhaften Kinder (Gruppe 1) die übrigen drei Gruppen etwas übertreffen, wenn der Unterschied hier auch gering ist. Die Werte für die Verdauung entsprechen wie immer denjenigen der Aufnahme. Bei der Retention findet jedoch eine gewisse Umkehr der Verhältnisse statt. Gruppe 1 mit der relativ besten N-Aufnahme hat nur einen mäßigen N-Ansatz, während Gruppe 4 mit der verhältnismäßig geringsten N-Aufnahme die beste N-Retention von allen Gruppen zeigt. Dieser Wandel im N-Stoffwechsel bei den beiden Gruppen ist von großem Interesse und erhöht den Wert der einzelnen Beobachtungen. Für die Praxis ergibt sich aus diesem eindeutigen Stoffwechselbefunde die Lehre, den N-Konsum der dünnen und lebhaften Kinder, dieses großen Kontingentes der Sprechstunde des Kinderarztes, nicht zu knapp zu bemessen [1]). Die Werte für die im Körper verbrannten resp. angesetzten Cal. entsprechen bei Gruppe 1 und 4 denjenigen der Aufnahme. Der relativ sehr konstante Energieverlust durch den Kot und den Urin bringt es mit sich, daß der ersten Gruppe schließlich auch entsprechend ihrer relativ besten Energieaufnahme die meisten Cal. für den Körperhaushalt zur Verfügung stehen. Im

---

[1]) Ich habe schon auf die schlechte N-Retention sowohl der dünnen wie der lebhaften Kinder (s. S. 279 u. 281) aufmerksam gemacht, hier bei der Kombination der Eigenschaften tritt diese Tatsache noch deutlicher hervor.

Gegensatze hierzu[1]) steht die Gewichtszunahme bei dieser Gruppe, welche die schlechteste von allen Gruppen ist und nur den zweiten bis dritten Teil der Zunahmen jener ausmacht. Ist schon[2]), die dünnen und die lebhaften Kinder einzeln betrachtet, die Zunahme eine geringe, so wird sie noch kleiner, wenn bei ihnen diese beiden Eigenschaften vereint vorhanden sind. Auffallend ist die geringe durchschnittliche Gewichtsvermehrung der vierten Gruppe. Der Grund hierfür ist, daß dieser Gruppe das Kind Heise angehört, welches einen mäßigen Gewichtsverlust aufweist und dadurch den Durchschnittswert erheblich herabdrückt. Die übrigen drei Kinder zeigen eine gute Zunahme.

Es erschien weiter noch interessant, zu sehen und im Zusammenhange festzustellen, wie sich das Verhältnis zwischen dem Stoffwechsel (im besonderen der Nahrungsaufnahme) und den Gewichtsveränderungen der Kinder gestaltet. Dieser Gedanke liegt der Aufstellung der Tabelle XII zugrunde. Die in dieser Tabelle durchgeführte Gruppierung der Kinder in sechs Gruppen nach der Gewichtsveränderung zeigt, daß die Beziehungen zwischen Gewichtszunahme und Nahrungszufuhr nur sehr lose sind. Die zu erwartende, von Gruppe zu Gruppe steigende N-Aufnahme resp. Kraftzufuhr ist nicht vorhanden; die Werte schwanken untereinander, es läßt sich nur das eine sagen, daß die Kinder mit Gewichtsverlust hinter den Kindern aller übrigen Gruppen in der Nahrungsaufnahme zurückstehen, ohne daß die Werte als besonders niedrige zu bezeichnen sind, oder gar in ihrer Kleinheit eine Begründung für den Gewichtsverlust darbieten. In gleicher Weise wechselnd ist der N-Ansztz bei den einzelnen Gruppen. Der Wert für die N-Retention der ersten Gruppe ist zwar etwas kleiner als der betreffende Durchschnittswert für alle Kinder (0,03 gegenüber 0,04), aber die Differenz ist doch sehr gering, und die beiden Kinder der sechsten Gruppe mit ihrer außergewöhnlich großen Zunahme zeigen einen noch kleineren Wert. Bei der sehr reichlichen Gesamtnahrungszufuhr meiner Versuchskinder läßt sich, wie schon erwähnt, aus der N-Bilanz nicht recht etwas schließen. Die dem Körper zur Verfügung stehende Energie ist entsprechend der Zufuhr bei den Kindern mit Gewichtsverlust

[1]) Aber im Einklange mit der geringen N-Retention.

[2]) Wie es Tabelle VIII u. IX zeigt.

die kleinste von allen Gruppen, im übrigen schwanken die Werte untereinander und lassen keine Gesetzmäßigkeit erkennen. Bemerkenswert ist es noch, daß von den fünf Kindern mit Gewichtsverlust keins eine erhebliche N-Abgabe zeigt, vielmehr haben drei eine gute N-Retention und die beiden anderen sind sozusagen im N-Gleichgewicht gewesen. Es tritt bei dieser Gruppierung besonders deutlich hervor, daß der N-Ansatz, in Fleisch umgerechnet, in keiner Weise der Körpergewichtsveränderung entspricht, sondern daß für diese in der Hauptsache das Fett bestimmend ist, da erhebliche Wasserretentionen bei der gleichmäßigen Ernährung und der regelmäßigen Durchführung der 6—7tägigen Vorversuche im allgemeinen nicht anzunehmen sind.

Besprechung des pro Tag und Körperoberfläche berechneten Stoffwechsels.

Die Tabellen XIIIa und b enthalten den Stoffwechsel meiner Versuchskinder auf den Tag und den dm^2 Oberfläche als Einheit nach der Meeh'schen (34) Formel[1]) berechnet; und zwar sind die Kinder in a nach der Größe der Oberfläche und in b nach dem Alter geordnet. Rubner (15a) hat eingehend die Bedeutung der Körperoberfläche eines Individuums für den Energiebedarf, wie er sich aus der Differenz der aufgenommenen Energie einerseits und der Abgabe in Kot und Urin und dem täglichen Anwuchs andrerseits ergibt, studiert. Er stellte die These auf, daß der Energiebedarf bei allen Individuen im großen und ganzen der Oberfläche proportional ist. Besonders deutlich tritt diese Beziehung in Erscheinung bei Individuen, welche an Körpergröße und Gewicht stark differieren, hier gleicht die relativ sehr viel größere Oberfläche der kleinen gegenüber der relativ kleinen Oberfläche der großen die Differenzen, welche sich bei der Berechnung auf das Körpergewicht als Einheit ergeben, in der Hauptsache aus. Ich habe diese Berechnung auf die Oberfläche als Einheit auch bei meinen Versuchskindern durchgeführt, und zwar sowohl für den sogenannten wahren Nährstoffbedarf, als auch für den übrigen Stoffwechsel. Große Erwartungen für einen Ausgleich der Differenzen im Energiebedarf wird man von vornherein nicht hegen dürfen, da meine Versuchskinder doch nur eine sehr

[1]) Die von mir benützte Konstante beträgt 11,97.

beschränkte Altersperiode (3.—6. Lebensjahr) mit relativ kleinen Gewichtsdifferenzen umfassen, bei welchen die ausgleichende Wirkung der Oberfläche nicht recht zur Geltung kommen kann: Gruppe 13a enthält, wie gesagt, die Kinder nach gewissen Größen der Oberflächen geordnet. Vergleicht man die Durchschnittswerte der einzelnen Gruppen für die Nahrungsaufnahme, die Verdauung und Retention untereinander, so läßt sich im allgemeinen eine gute Übereinstimmung der Werte in den verschiedenen Gruppen erkennen. Nur Gruppe 1 (und in geringem Maßstabe auch die zweite Gruppe), welche die Kinder mit der absolut kleinsten Oberfläche enthält, steht in allen Phasen des Kraftwechsels hinter den übrigen Gruppen etwas zurück. Im Durchschnitt aller Kinder sind die Werte für den Stoff und Kraftwechsel die folgenden:

	N	Cal.
Aufnahme pro Tag und dm² Oberfläche .	0,11 g	20,1
Kotverlust ,, ,, ,, ,, ,, .	0,01 ,,	1,2
Verdaut ,, ,, ,, ,, ,, .	0,10 ,,	18,9
Urinverlust ,, ,, ,, ,, ,, .	0,09 ,,	0,9
Zur Verfügung d. Körpers pr. Tag u. dm² Oberfl.	0,01 ,,	18,0

Die letzte Rubrik, welche die Werte für den Nährstoffbedarf enthält, zeigt erheblichere Differenzen und bedarf einer besonderen Besprechung. Der bedeutendste und deutlichste Unterschied ist das Übergewicht der Werte der beiden ersten Gruppen über diejenigen der übrigen. Danach haben die Kinder mit der absolut kleinsten und der relativ größten Oberfläche die größte Energiemenge, und zwar 18,9 gegenüber 15,6 Cal., zur Erhaltung ihres Körperbestandes verbraucht. Hier tritt eine ausgleichende Wirkung der Oberflächenberechnung nicht ein. Der Mittelwert aller Kinder beträgt 16,7 Cal. Die von Camerer angegebenen Zahlen sind:

Mädchen	2.—4.	Lebensjahr	14,7 Cal.
,,	5.—7.	,,	14,6 ,,
Knaben	5.—6.	,,	16,8 ,,

Mein Wert von 16,7 Cal. ist nahezu identisch mit Camerers Angabe für seinen Knaben im 6. Lebensjahre.

Tabelle XIIIb zeigt die Kinder nach dem Lebensalter gruppiert. Trenne ich die Kinder noch nach dem Geschlechte, so finde ich folgende Werte für den Energiebedarf:

Mädchen	3.—4.	Lebensjahr	16,5 Cal.
„	5.—6.	„	14,8 „
Knaben	3.—4.	„	18,1 „
„	5.—6.	„	16,7 „

Von diesen Werten stimmen die der älteren Kinder mit Camerers Zahlen gut überein, während diejenigen der jüngeren erheblich höher sind. Der Kraftbedarf (Knaben und Mädchen zusammengenommen) in den vier verschiedenen Lebensjahren zeigt dagegen sehr nahe liegende Zahlen. Der gesamte Stoffwechsel weist gleichfalls sehr ähnliche Werte auf, nur Gruppe 1 mit den jüngsten, und im Durchschnitt auch dem Gewicht nach leichtesten Kindern steht in allen Phasen ein wenig hinter den übrigen zurück; die N-Retention im 6. Lebensjahre ist im Durchschnitt dieser Gruppe gleich Null, entspricht also einem N-Gleichgewicht. Es läßt sich sagen, daß die Beziehung des Stoffwechsels und des wahren Nährstoffbedarfes auf die Oberfläche als Einheit die vorhandenen Differenzen zum Teil ausgeglichen hat. Es erschien noch interessant, zu berechnen, ob die dünnen Kinder mit ihrer im Verhältnis zum Gewicht großen Oberfläche gegenüber den dicken mit ihrer relativ kleinen Oberfläche sich verschieden verhalten. Es zeigt sich, daß die ersteren

15,6 Cal. pro Tag und dm^2 Oberfläche und 79 pro Tag und kg, die letzteren (die dicken)

17,3 Cal. pro Tag und dm^2 Oberfläche und 91 pro Tag und kg verbraucht haben, d. h. die dünnen Kinder haben bei Beziehung auf die Oberfläche 90% und bei Berechnung auf das Gewicht 87% des Energieverbrauches der dicken Kinder aufzuweisen.

Die Oberflächenberechnung gleicht danach die Verschiedenheit im Energieverbrauch zwischen dünnen und dicken Kindern etwas aus, aber die Verbesserung ist gering, und, wie es sich schon früher gezeigt hat, ist die Differenz auf andere Ursachen, wenigstens in der Hauptsache zurückzuführen.

Besprechung der Perspiratio insensibilis.

Es war von Interesse, zu sehen, wie sich bei den verschieden gearteten Kindern meinse Versuchsmaterials die Wasserabgabe durch die Haut gestaltet. Verschieden an Temperament, Konstitution, Schlaf u. a., war es anzunehmen, daß sich bei ihnen auch der Wasserverlust durch die Haut, ein wichtiger Indicator der Muskeltätigkeit, different verhalten würde.

Die Wasserverdunstung des Körpers hängt in erster Linie von der Größe der Wärmeproduktion ab, wenigstens soweit es sich um die Ausscheidung durch die Haut handelt, während ja die Wasserabgabe durch die Lunge einfach von der Stärke der Atmung und dem Wassergehalt der Inspirationsluft bestimmt wird. In allen Fällen, wo eine nennenswerte Wassersekretion auf der Haut zustande kommt, steht die Wasserverdunstung im Dienste der Wärmeregulation; wir können also unter gleichen klimatischen Verhältnissen aus einer stärkeren Wasserverdunstung den Schluß ziehen, daß die Wärmeproduktion eine lebhaftere war. Die Wärmeproduktion hängt ihrerseits wieder hauptsächlich von der Muskeltätigkeit ab, und wir können aus dieser weiter auf die Beweglichkeit und das Temperament der Kinder schließen.

Die Berechnung der Wasserverdunstung durch die Haut baut sich auf folgenden Überlegungen auf. Die Grundlage der Berechnung ist die Perspiratio insensibilis. Es war deshalb vor allem notwendig, bei den Kindern die Werte für diese festzustellen. Wie aus den Versuchsprotokollen zu ersehen ist, habe ich dieselbe für die Kinder der 3., 4. und 5. Reihe berechnet[1]). Wägungen der gesamten Nahrung, des Kotes und des Urins gaben mir unter Berücksichtigung der Gewichtsveränderungen die Verluste durch die insensible Perspiration. Leider stehen mir Respirationsversuche nicht zur Verfügung. Dank der ausgedehnten Arbeiten von Zuntz und seinen Mitarbeitern (23) und der Untersuchungen von Magnus-Levy (13a und b) über den Lungengaswechsel bei Kindern besitzen wir die Grundlage, auf welcher eine derartige Berechnung, auch ohne eigene Respirationsversuche, aufgebaut werden kann. Die auf diesem Wege erhaltenen Werte sind natur-

---

[1]) Tabelle XVI enthält die Zusammenstellung dieser Werte.

gemäß durchaus nur Annäherungswerte, aber sie sind doch wohl genau genug, um mit ihrer Hilfe die Perspiratio insensibilis genauer zu analysieren, d. h. zu sehen, wie sich die Verluste durch diese auf die Atmung und die Hautverdunstung verteilen.

Um die gesamte Wasserverdunstung des Körpers kennen zu lernen, brauchen wir von der insensiblen Perspiration nur den auf Kohlensäureausscheidung kommenden Anteil abzurechnen, der Rest ist dann Wasser. Die Kohlensäureausscheidung bedingt aber nur dann einen Gewichtsverlust, wenn das Gewicht derselben das Gewicht des aufgenommenen Sauerstoffs übersteigt (s. die genaueren Ausführungen darüber und über die Art der Berechnung der durch Kohlensäureabgabe und Sauerstoffaufnahme bedingten Gewichtsveränderung bei N. Zuntz und seinen Mitarbeitern (23), S. 378 u. f.).

Da der resp. Quotient bei Kohlehydratzersetzung am höchsten (= 1,0) und bei Fettzersetzung am niedrigsten (= 0,7) ist, so wird der Gewichtsverlust durch Kohlensäureabgabe um so größer sein, je erheblicher der Anteil der Kohlehydrate am Gesamtstoffwechsel ist. Die in meinen Versuchen nur in geringen Grenzen schwankende Menge des umgesetzten Eiweißes hat auf den resp. Quotienten und damit auch auf die in Frage stehende Gewichtsveränderung nur sehr geringen Einfluß, da der resp. Quotient bei Eiweißzersetzung (= 0,78) dem des Gesamtstoffwechsels meiner Kinder bei der gereichten, gemischten Nahrung sehr nahe kommt.

Die genauere Berechnung gestaltet sich folgendermaßen:

1. Bei Kohlehydratverbrennung entsteht auf 1 l Sauerstoff 1 l Kohlensäure,

nun wiegt 1 l CO_2 1,966 g
und 1 l O_2 1,430 „

Es tritt also ein Gewichtsverlust von — 0,536 g ein.

Weiter entspricht hier ein O_2-Verbrauch von 0,198 l einer Cal., und da auf 1 l O_2 ein Gewichtsverlust von —0,536 g kommt, so ist dieser bei 0,198 l O_2, entsprechend 1 Cal., = 0,189 · 0,536 = —0,096 g.

2. Bei Fettverbrennung entspricht 1 l Sauerstoff 0,707 l Kohlensäure,

nun wiegt ,1 l O_2 1,430 g

und 0,707 l CO_2 1,390 „ , es tritt also hier eine Gewichts-
zunahme von + 0,040 g ein.

Weiter entfällt auf 1 Cal. bei Fettverbrennung ein Verbrauch von 0,213 l O_2, da nun auf 1 l O_2 eine Gewichtszunahme von +0,040 g kommt, so ist diese bei 0,213 l O_2, entspsechend 1 Cal., $= 0{,}213 \cdot 0{,}04 = +0{,}009$ g.

3. Bei Eiweißverbrennung entspricht 1 l Sauerstoff 0,775 l Kohlensäure,

nun wiegt 1 l O_2 1,430 g

und 0,775 l CO_2 1,524 g, es tritt also hier ein Ge-
wichtsverlust von —0,094 g ein.

Weiter entspricht hier 1 Cal. ein Verbrauch von 0,215 l O_2, und da bei 1 l O_2 ein Gewichtsverlust von —0,094 g eintritt, so ist dieser bei 0,215 l O_2, entsprechend 1 Cal., $= 0{,}215 \cdot 0{,}094 = 0{,}02$ g.

Ich gehe jetzt zu der Berechnung der Gewichtsverluste beim Umsatz der einzelnen Kinder über. Dazu bedarf es einiger Vorbemerkungen.

1. Bei der Eiweißverbrennung finden wir die Calorien-Produktion hinreichend genau (s. Zuntz, l. c., S. 103), wenn wir auf 1 g im Harn ausgeschiedenen N „27 Cal." rechnen.

2. Bei der Fettverbrennung ist für das aus der Nahrung resorbierte Fett der Brennwert des Butterfettes (9,23 Cal.) der entsprechende, da das Nahrungsfett meiner Versuchskinder in der Hauptsache solches war. Einige meiner Versuchskinder haben neben diesem noch Körperfettgewebe eingeschmolzen und verbrannt, andere haben einen Teil des resorbierten Fettes zum Ansatz gebracht. Es müßte infolgedessen eigentlich eine kleine Korrektur angebracht werden, welche einmal das Plus an verbranntem Fett in Gestalt von eingeschmolzenem Körperfett, das andere Mal das Minus durch im Körper angesetztes Fett berücksichtigt. Bei der Kontrollrechnung stellte sich jedoch der Unterschied als so gering heraus, daß ich angesichts der Ungenauigkeit der gesamten Rechnung darauf verzichten zu können glaubte. Ich lasse hier die Tabelle für die Fettresorption der Kinder folgen. Die Werte für die Fettaufnahme sind aus dem von mir

teils durch Wägung, teils durch direkte Bestimmung nach Soxhlet festgestellten Fettgehalt der Speisen berechnet, diejenigen für den Fettgehalt des Kotes sind das Resultat direkter Bestimmungen (Behandlung mit Salzsäurealkohol der einmal extrahierten Substanz und nochmalige Extraktion zur Bestimmung des Seifenfettes).

1. Kinder der 3. Versuchsreihe (absolute Werte in g):

Namen	Fettaufnahme mit d. Nahrung	Verlust im Kote	Resorbiertes Fett	in % d. Aufnahme	pro Tag u. kg resorb. Fett
Winkler	297,62	11,90	285,72	96,0	3,86
Malitzki	299,83	17,52	282,31	94,2	3,36
Päschel	272,86	12,85	260,01	95,3	3,95
Moritz	247,24	11,25	235,99	95,4	3,57
Strauß	288,66	14,82	273,84	94,9	3,46
Struß	301,60	9,08	292,52	97,0	3,48
2. Kinder der 4. Versuchsreihe:					
Cimanowski	318,42	12,66	305,76	96,0	3,44
Rodewald	182,59	14,93	167,66	91,8	2,77
Loose	169,32	19,99	149,33	88,2	2,68
Radüntz	213,72	7,31	206,41	96,6	3,30
Heise	191,76	11,80	179,96	93,9	2,23
Waßenmüller	261,58	14,75	246,83	94,4	3,49
3. Kinder der 5. Versuchsreihe:					
Fedtke	310,91	17,28	293,63	94,4	3,02
Simon	297,25	11,93	285,32	96,0	3,74
Krüger	265,93	25,85	240,08	90,3	3,38
Eibert	190,20	10,76	179,44	94,3	3,10
Wagner	292,91	9,93	282,98	96,6	3,30
Neumann	291,66	20,13	271,53	93,1	3,08
Landwehr	255,69	12,57	243,12	95,1	3,24
Schröder	207,01	14,82	192,19	92,8	2,40
Marzyski	243,72	11,29	232,43	95,4	3,23
			Durchschnitt:	94,4%	3,26

Der Durchschnittswert der prozentualen Fettresorption meiner Versuchskinder ist ein guter und normaler, er beträgt 94,4%, die tägliche Resorption pro kg 3,26 g, die Aufnahme 3,45 g.

Die prozentuale Fettresorption schwankt zwischen dem niedrigsten Wert von 88,2% bei dem Knaben Loose (Nr. 20) und dem höchsten Wert von 97% bei dem Knaben Struß (Nr. 17). Die Fettaufnahme berechnet sich bei dem ersteren auf 3,03 g, bei dem letzteren auf 3,59 g pro Tag und kg, also eine nicht unwesentliche Differenz. Das Kind Loose hat danach eine schlechte Fettausnützung zu verzeichnen. Wie aus Tabelle VII ersichtlich, hat dieses Kind einen schlechten Appetit gehabt, während das Kind Struß sich eines regen zu erfreuen hatte. Im übrigen liegen die Brennwerte des Verdauten bei beiden Kindern der Fettverdauung analog, so daß diese bei ihnen nur eine Teilerscheinung der Gesamtverdauung bildet.

3. Die Bestimmung der Calorienproduktion aus den Kohlehydraten beruht auf einer Differenzrechnung, und zwar ist von dem Gesamtwärmewert des Resorbierten die auf Eiweiß und Fettverbrennung entfallende Calorienproduktion in Abzug zu bringen, der Rest entspricht dann der Wärmebildung aus Kohlehydraten. Auf Grund des von mir auf Seite 288 berechneten Gewichtsverlustes bei Kohlehydratverbrennung für 1 Cal. ist dann für jedes Kind der Gewichtsverlust bequem zu berechnen.

Die Tabelle XIV gibt im Zusammenhange und im Anschlusse an die eben gemachten Ausführungen die Gewichtsverluste für die einzelnen Kinder infolge der Differenz der Kohlensäureabgabe und Sauerstoffaufnahme. Die Werte gelten sämtlich pro Tag und kg. Zum besseren Verständnis der Tabelle führe ich die Berechnung dieses Wertes bei einem Kinde als Beispiel durch.

Kind Winkler (Nr. 12) hat im Urin 0,47 g N ausgeschieden, diese Menge entspricht einer Calorienproduktion von $0,47 \cdot 27 = 12,7$ Cal. und einem Gewichtsverlust von $12,7 \cdot 0,2 = 0,25$ g bei der Eiweißverbrennung. Dann hat das Kind 3,86 g Fett resorbiert resp. verbrannt und damit $3,86 \cdot 9,23 = 35,6$ Cal. produziert, was einer Gewichtszunahme von $35,6 \cdot 0,009 = 0,32$ g entspricht. Weiter ist bei diesem Kinde der Brennwert des Verdauten 117,8 Cal., von dieser Menge kommt erstens der Brennwert des Eiweißes in Höhe von 12,7 Cal. und zweitens derjenige des Fettes in Gestalt von 35,6 Cal. in Abzug, so daß als Differenz für die Kohlehydrate ein Brennwert von 69,5 Cal. übrig bleibt. Mit dieser Calorienproduktion aus den Kohlehydraten verliert

das Kind 69,5 · 0,096 = 6,67 g. Aus diesen drei Gewichtsveränderungen bei der Verbrennung, und zwar

−0,25 g bei der Eiweißverbrennung,
+0,32 „ „ „ Fettverbrennung und
−6,67 „ „ „ Kohlehydratverbrennung

ergibt sich für dieses Kind ein Gesamtgewichtsverlust von 6,60 g bei der respiratorischen Verbrennung.

Es ist jetzt weiterhin unsere Aufgabe, annähernd zu berechnen, in welchem Umfange die Haut an der Wasserverdampfung beteiligt ist. Wir haben also abzuschätzen, wie viel Wasserdampf pro Tag und kg mit der Atemluft abgegeben worden ist. Als Grundlage für diese Schätzung müssen wir den Wassergehalt der eingeatmeten Luft sowie die Größe der Lungenventilation kennen, wobei wir unbedenklich die Annahme machen dürfen, daß die Luft für die Körpertemperatur mit Wasserdampf gesättigt wieder ausgeatmet wird. Die Atmungsluft können wir aus dem O_2-Verbrauch und der O_2-Menge, welche aus jedem Liter geatmeter Luft vom Körper aufgenommen wird, berechnen. Der verbrauchte O_2 ergibt sich aus dem Energieverbrauch. Wir können annehmen, daß beim resp. Quotienten von 0,8—0,85 g, wie er der Umsetzung des von meinen Versuchskindern genossenen Nahrungsgemisches entspricht, auf 4,8 Cal. 1 l Sauerstoff verbraucht wird, also auf 1 Cal. 1 : 4,8 = 0,21 l O_2. Für die weitere Betrachtung erscheint es mir vorteilhaft, auch diese Berechnung als Beispiel bei einem Kinde durchzuführen.

Kind Winkler Nr. 12 hat pro Tag und kg 107 Cal. (s. Tabelle III) verbraucht, das entspricht einem O_2-Verbrauch von 107 · 0,21 = 22,47 l. Die zur Aufnahme dieser O_2-Menge notwendige Atemluft können wir aus den Respirationsversuchen von Magnus-Levy (13a) an Kindern ableiten. In jenen Versuchen betrug das O_2-Defizit im Durchschnitt für die Altersklasse meiner Versuchskinder 3,06%, d. h. es wurden pro 100 l Atemluft 3,06 l Sauerstoff verbraucht. Dieser Wert bezieht sich jedoch auf die Luftmenge bei Normaldruck und 0° Temperatur. Für die Temperatur von 37° (des Körpers) ist die Luftmenge um 37 : 273 zu vergrößern oder mit 1,136 (1 + 0,136) zu multiplizieren, das ergibt für 3,06 l Sauerstoff eine Atemluft von 113,6 l, deren Wasserdampfspannung bei dieser Temperatur 46,6 mm beträgt. Dadurch

vermehrt sich das Volumen noch auf $\frac{113,6 \cdot (760 + 46,6)}{760} = 120,57$ l.

Das ergibt auf 1 l Sauerstoff $\frac{120,57}{3,06} = 39,4$ l Atemluft und auf den Sauerstoffverbrauch dieses Kindes von 22,47 l eine geatmete Luftmenge von $22,47 \cdot 39,4 = 885$ l.

Nun enthält 1 l bei 37° gesättigter Exspirationsluft 43,95 mg Wasserdampf, davon ist abzuziehen der Wassergehalt der Außenluft. Dieser ergibt sich aus der Zusammenstellung der Tabelle XV; er ist im Mittel der Versuchszeit der dritten Versuchsreihe 7,92 mg pro 1 l Luft. Mithin:

1 l Exspirationsluft enthält	43,95 mg Wasserdampf
1 l Außenluft enthält	7,92 „ „
Es ist vom Körper geliefert worden .	36,03 mg Wasserdampf,

d. i. für 885 l Ventilationsluft $36,03 \cdot 885 = 31,9$ g H_2O.

Das Kind Winkler hat demnach pro kg und 24 Stunden 31,9 g Wasser durch die Lunge verdunstet.

Die Schlußrechnung gestaltet sich, wie folgt:

Die Perspiratio insensibilis pro Tag und kg beträgt	51,9 g[1])
Der Verlust durch die CO_2 beträgt pro Tag und kg	6,6 „
Bleibt Rest für die gesamte Wasserverdunstung	45,3 g
Der Wasserverlust durch die Lungen ist pro Tag und kg	31,9 „
Es bleibt mithin für die Wasserverdunstung durch die Haut pro Tag und kg	13,4 g

Die analoge Berechnung habe ich für sämtliche Kinder durchgeführt und in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt.

Die Werte gelten sämtlich pro Tag und kg.

Die Perspiratio insensibilis verteilt sich demnach in folgender Weise auf ihre einzelnen Komponenten im Durchschnitt aller Kinder:

Die Perspiratio insensibilis beträgt	48,6 g
Der Verlust durch CO_2-Abgabe (respirat. Verbrennung) beträgt	4,9 g
Bleibt für die gesamte Wasserabgabe	43,7 g
Die Wasserverdunstung durch die Lungen beträgt	24,8 g
Rest für die Wasserverdampfung durch die Haut .	18,9 g

[1]) S. Tabelle XVI.

Tabellarische Zusammenstellung der Werte für die Wasserverdunstung durch die Lunge und die Haut.

Nr.	Name	Die zur Erhaltung des Körpers verbrauchte Energie	Der dieser Energie entsprechende O_2-Verbrauch	Die diesem O_2-Verbrauch entsprechende Ventilationsluft	Wasserdampfgehalt pro 1 l Außenluft im Mittel der Versuchszeit	Die vom Körper gelief. H_2O-Menge beträgt demnach pro l Ventil.-Luft	Wasserverdunstung durch die Lunge	Perspiratio insensibilis	Gewichtsverlust durch die respiratorische Verbrennung	Rest für Wasserverdunstung	Rest für die Wasserverdunstung durch die Haut
		Cal.	l	l	mg	mg	g	g	g	g	
	3. Versuchsreihe										
14	Paeschel	119	24,99	983	7,92	36,03	35,4	59,9	5,8	54,1	18,7
15	Moritz	106	22,26	876			31,6	50,9	5,5	45,4	13,8
12	Winkler	107	22,47	885			31,9	51,9	6,6	45,3	13,4
16	Strauß	103	21,63	851			30,7	48,2	5,4	42,8	12,1
13	Malitzki	101	21,21	835			30,1	47,2	6,2	41,0	10,9
17	Struß	80	16,80	661			23,8	40,0	5,2	34,8	11,0
	4. Versuchsreihe										
20	Loose	98	20,58	810	8,64	35,31	28,6	48,5	4,6	43,9	15,3
19	Rodewald	95	19,95	785			27,7	45,8	4,7	41,1	13,4
21	Radüntz	101	21,21	835			29,5	56,2	5,0	51,2	21,7
23	Waßenmüller	82	17,22	678			23,9	47,4	5,0	42,4	18,5
22	Heise	82	17,22	678			23,9	38,4	3,4	35,0	11,1
18	Cimanowski	76	15,96	628			22,2	39,8	4,4	35,4	13,2
	5. Versuchsreihe										
27	Eibert	83	17,43	686	7,46	36,49	25,0	55,6	4,3	51,3	26,3
26	Krüger	63	13,23	521			19,0	55,5	4,6	50,9	31,9
32	Marzyski	37	7,77	306			16,3	48,7	4,5	44,2	27,9
30	Landwehr	67	14,07	554			20,2	52,6	4,6	48,0	27,8
25	Simon	68	14,28	562			20,5	51,8	5,4	46,4	25,9
31	Schröder	53	11,13	438			16,0	42,3	4,0	38,3	22,3
28	Wagner	74	15,54	612			22,3	49,4	4,7	44,7	22,4
29	Neumann	72	15,12	595			21,7	42,8	4,5	38,3	16,6
24	Fedtke	71	14,91	587			21,4	48,6	5,1	43,5	22,1
					Im Durchschnitt:		24,8	48,6	4,9	43,7	18,9

Das Hauptinteresse der vorstehenden, wie gesagt, nur annähernd genauen Berechnung für die Verteilung der Perspiratio insensibilis konzentriert sich auf die Frage, wie sich bei meinen verschieden gearteten Versuchskindern die Wasserverdunstung durch die Haut verhält. Naturgemäß ist hier bei gleichen Außenbedingungen die Muskeltätigkeit einerseits, das Ausstrahlungsvermögen der Haut andrerseits bestimmend. Es ist also das Temperament in erster Linie, und dann die Konstitution von Bedeutung. Es war zu erwarten, daß die größere Beweglichkeit der lebhaften Kinder eine stärkere Muskeltätigkeit und damit auch, wie schon eingangs erwähnt, eine erhöhte Wärmeproduktion zur Folge habe, welche sich ihrerseits wieder in einer vermehrten Wasserverdunstung durch die Haut äußern müsse, während bei den fetten Kindern die erfahrungsgemäß durch die Fettschicht an der Oberfläche beschränkte Leitung und Strahlung der Haut einen Einfluß auf die Wasserverdunstung zeigen würde. Ich möchte hier nochmals hervorheben, daß die von mir berechneten Werte besonders deshalb einen wohlbegründeten Anspruch darauf haben, der Wahrheit nahe zu kommen, weil in den durch äußere Einwirkungen produzierten Bewegungen (Spazierengehen, Spiel), sowie in der Kleidung (Rubner), der Zimmertemperatur, der Versuchszeit (Winter) u. a. möglichste Gleichmäßigkeit innegehalten wurde. Die Unterschiede, welche sich bei der Betrachtung der Verschiedenheiten in Temperament und Konstitution der Kinder zeigen werden, erscheinen dadurch um so bedeutungsvoller.

Zum Vergleiche führe ich zuerst einige Werte früherer Autoren an: Rubner und Heubner berechnen für das Brustkind ihres Versuches eine Wasserverdunstung durch die Haut von 18,6 g pro Tag und kg, für den Erwachsenen finden u. a.

Rubner und Lewaschew (15c)		15,8 g	pro Tag und kg.
Schwenkenbecher (18)	ca.	10,0 g	
Kalmann (11)	ca.	11,0 g	

Mein Wert von 19,1 g liegt demnach dem von Rubner und Heubner berechneten sehr nahe, er ist jedoch wesentlich höher als der für den Erwachsenen von verschiedenen Autoren gefundene. Bei der großen Abhängigkeit der Hautverdunstung von den verschiedensten Faktoren (Temp., relativen Feuchtigkeit der Luft,

Kleidung, Muskeltätigkeit u. a.) möchte ich meinem absoluten Werte keine so große Bedeutung beilegen. Durchaus berechtigt und von großem Interesse erscheint mir dagegen ein Vergleich meiner Werte, wie schon erwähnt, untereinander, da diesen die gleichen eventuellen Fehler anhaften.

In der nachfolgenden kleinen Tabelle habe ich mein Versuchsmaterial wieder nach dem Temperament geordnet.

1. Lebhafte Kinder:

Namen	Nr.	Persp. insens.	Gewichtsverlust durch CO_2-Abgabe	Wasserverdunstung durch die Lunge	Wasserverdunstung durch die Haut
Eibert	27	55,6	4,3	25,0	26,3
Rodewald	19	45,8	4,7	27,7	13,4
Radünz	21	56,2	5,0	29,5	21,7
Päschel	14	59,9	5,8	35,4	18,7
Waßenmüller	23	47,4	5,0	23,9	18,5
Krüger	26	55,5	4,6	19,0	31,9
Marzyski	32	48,7	4,5	16,3	27,9
Landwehr	30	52,6	4,6	20,2	27,8
Strauß	16	48,2	5,4	30,7	12,1
Wagner	28	49,4	4,7	22,3	22,4
Neumann	29	42,8	4,5	21,7	16,6
Cimanowski	18	39,8	4,4	22,2	13,2
Fedtke	24	48,6	5,1	21,4	22,1
Im Durchschnitt:		50,0 g	4,8 g	24,2 g	21,0 g

2. Ruhige Kinder:

Namen	Nr.	Persp. insens.	Gewichtsverlust durch CO_2-Abgabe	Wasserverdunstung durch die Lunge	Wasserverdunstung durch die Haut
Simon	25	51,8	5,4	20,5	25,9
Heise	22	38,4	3,4	23,9	11,1
Malitzki	13	47,2	6,2	30,1	10,9
Strußß	17	40,0	5,2	23,8	11,0
Im Durchschnitt		44,4 g	5,1 g	24,6 g	14,7 g

Die genauere Betrachtung dieser kleinen Zusammenstellung zeigt, daß die lebhaften Kinder eine größere sensible Perspiration haben als die ruhigen; und zwar liegen die Werte für die Verluste durch die respiratorische Verbrennung und die Wasserverdunstung durch die Lunge ziemlich nahe, während die Differenz zwischen

beiden Gruppen in der Hauptsache in der verschiedenen Wasserverdunstung durch die Haut ihren Ausdruck findet. Die Abteilung 1 hat pro Tag und kg eine um 6,3 g höhere Hautverdunstung als Abteilung 2, d. i. 43%, also ein gewaltiger und eindeutiger Unterschied. Die Erwartung, daß die lebhaften Kinder durch ihre größere Muskeltätigkeit und ihre davon abhängige erhöhte Wärmeproduktion mehr Wasser durch die Haut als ihre ruhigen Genossen abgeben, um ihre Körpertemperatur zu erhalten, ist tatsächlich eingetroffen und hat durch diese Versuche eine genügende Sicherstellung erfahren.

Ich gehe jetzt zur Besprechung dieser Verhältnisse bei den ihrer Konstitution nach verschiedenen Kindern über. Die nachfolgende kleine Tabelle trennt wieder mein Versuchsmaterial in dünne und dicke Kinder.

1. Dünne Kinder:

Namen	Nr.	Persp. insens.	Gewichts-Verlust durch CO_2-Abgabe	Wasserverdunstung durch die Lunge	Wasserverdunstung durch die Haut
Lose	20	48,5	4,6	28,6	15,3
Eibert	27	55,6	4,3	25,0	26,3
Rodewald . . .	19	45,8	4,7	27,7	13,4
Päschel	14	59,9	5,8	35,4	18,7
Waßenmüller . .	23	47,4	5,0	23,9	18,5
Winkler	12	51,9	6,6	31,9	13,4
Strauß	16	48,2	5,4	30,7	12,1
Schröder	31	42,3	4,0	16,0	22,3
Wagner	28	49,4	4,7	22,3	22,4
Cimanowski . .	18	39,8	4,4	22,2	13,2
Im Durchschnitt: . .		48,9 g	4,9 g	26,4 g	17,6 g

2. Dicke Kinder:

Namen	Nr.	Persp. insens.	Gewichts-Verlust durch CO_2-Abgabe	Wasserverdunstung durch die Lunge	Wasserverdunstung durch die Haut	
Radüntz	21	56,2	5,0	29,5	21,7	27,3 g (Radüntz–Landwehr)
Krüger	26	55,5	4,6	19,0	31,9	
Marzyski . . .	32	48,7	4,5	16,3	27,9	
Landwehr . . .	30	52,6	4,6	20,2	27,8	
Heise	22	38,4	3,4	23,9	11,1	
Malitzki	13	47,2	6,2	30,1	10,9	
Im Durchschnitt: . .		49,8 g	4,7 g	23,2 g	21,9 g	

Der Unterschied in den Werten der Perspiratio insensibilis sind gering, das Plus liegt auf seiten der dicken Kinder. Diese haben jedoch eine wesentlich stärkere Wasserverdunstung durch die Haut als die dünnen Kinder, welche sich in einer Differenz der Mittelwerte von 4,3 g ausspricht und einer um 24% höheren Ausscheidung gleichkommt. Der Unterschied würde noch größer sein, wenn nicht zu der Abteilung der dicken Kinder zwei (Malitzki und Heise) gehören würden, welche die niedrigste, überhaupt vorkommende Hautverdunstung aufwiesen. Diese beiden Kinder sind die einzigen dieser Zusammenstellung, welche durch ihr ruhiges Wesen auffielen, alle anderen Kinder der dünnen und dicken Abteilung waren als lebhaft charakterisiert. Man muß daraus schließen, daß bei Heise und Malitzki das ruhige Temperament über die Wohlbeleibtheit in seiner Einwirkung auf die Hautverdunstung das Übergewicht hatte und deshalb den Wert so bedeutend herabdrückte. Bei der geringen Anzahl der Kinder möchte ich allerdings diese Schlußfolgerung nicht verallgemeinern. Wenn ich diese beiden Kinder ausschalte, und nur die danach übrigbleibenden, lebhaften Kinder betrachte, so steigt der Mittelwert der dicken Kinder auf 27,3 g, der Unterschied beträgt dann 9,7 g, d. i. eine um 55% höhere Wasserverdunstung. Offenbar verlieren die dicken und fetten Kinder weniger Wärme durch Leitung und Strahlung durch die Haut und müssen deshalb zur Erhaltung ihrer Körpertemperatur die Schweißdrüsen in stärkere Tätigkeit versetzen.

Schließlich kann ich noch darüber, was aus der von meinen Versuchskindern aufgenommenen Nahrung dem Gewicht nach im Verlaufe des gesamten Stoffwechsels wird, folgendes aussagen, allerdings unter dem immer wieder betonten Vorbehalt, daß meine Werte für die Perspiratio insensibilis nur Schätzungswerte sind.

Zur Berechnung der Perspiratio insensibilis habe ich, wie es aus dem Protokoll über die Nahrungsaufnahme der Kinder ersichtlich ist, bei den Kindern der dritten, vierten und fünften Reihe (21 Kinder) das Gewicht der täglich aufgenommenen Nahrung, des frischen Kotes und des Urins bestimmt. Berechne ich diese Mengen auf den Tag und das Kilogramm Körpergewicht als Einheit, so erhalte ich die Werte, welche in der Tabelle XVII enthalten sind.

Wichtig sind allein die Durchschnittswerte:

Danach haben meine Versuchskinder

mit der Nahrung aufgenommen . . . . 89,6 g,
davon mit dem Kote ausgeschieden . . . . 6,3 „,
d. i. in % der Nahrungsaufnahme 7,0%,
Die Resorption beträgt . . . . 83,3 g.
Der Verlust im Urin ist . . . . 30,8 „,
d. i. in % der Resorption 37,0%,
und in % der Nahrungsaufnahme . . . . 34,4%.
Es bleibt somit für den Anwuchs und die Perspiratio insensibilis . . . . 52,5 g.
Der Durchschnittswert für die gesamte Perspiratio insensibilis beträgt nach Tabelle XVI . . . . 48,6 g,
so daß auf den Anwuchs kommen . . . . 3,9 „.

Die Perspiratio insensibilis endlich verteilt sich wie folgt:

Gewichtsverlust durch respiratorische Verbrennung . . 4,9 g,
Wasserverdunstung durch die Lungen . . . . 24,8 g,
Wasserverdunstung durch die Haut . . . . 18,9 g.

Oder von 100 g aufgenommener Nahrung werden
7,0 mit dem Kote ausgeschieden und
34,4 mit dem Urin,
54,2 gehen mit der insensiblen Perspiration verloren und
4,4 werden angesetzt.

Die 54,2 g Gewichtsverlust durch die insensible Perspiration verteilen sich mit 5,5 g auf die respiratorische Verbrennung, mit 27,7 g auf die Wasserverdunstung durch die Lunge und mit 21,0 g auf diejenige durch die Haut. Mein Wert für den Ansatz ist sicher zu hoch, wie schon erwähnt ist die Zunahme meiner Versuchskinder zum Teil eine unnatürlich große.

Ich habe noch nach dem Vorgange von Camerer (5) die prozentische Verteilung der Ausscheidung berechnet.

Von 100 g Gesamtausscheidung kommen auf:

	Camerers			Meine Versuchskinder
	Mädchen		Knabe	
	2.—4. Lebensjahr	5.—7. Lebensjahr	5.—6. Lebensjahr	3.—6. Lebensjahr
Urin	60	59	49	35,9
Persp. insens. . .	34	36	42	56,9
Kot	6	5	9	7,3

Demnach haben meine Versuchskinder weniger mit dem Urin und mehr mit der i. P., wie die Kinder von Camerer ausgeschieden. Die Werte für den Kot stimmen ganz überein. Der Unterschied beruht, wie es ein genauerer Vergleich der Zahlen ergibt, in erster Linie darauf, daß Camerers Kinder eine weit größere Menge Urin pro Kilogramm, und zwar im Durchschnitt die Mädchen im 2.—4. Lebensjahre 54 g, im 5.—7. Lebensjahre 49 g, der Knabe im 5.—6. Lebensjahre 41 g ausgeschieden haben, was natürlich nur durch eine reichlichere Flüssigkeitsaufnahme zu erklären ist. In der Wasserverdunstung bestehen geringere Unterschiede, doch ist die Perspiratio insensibilis bei mir etwas höher als bei Camerer. Lebhaftere Körperbewegung oder etwas höhere Temperatur der Umgebung dürften den Unterschied befriedigend erklären.

Es erschien weiterhin noch von Interesse, zu berechnen, welchen Anteil an dem N-Ansatz die N-Ablagerung in den Horngebilden der Haut (Haare, Nägel, Hautschuppen) nimmt. Ich habe zu diesem Zwecke bei neun Kindern der Altersklasse meiner Versuchskinder innerhalb 14 Tagen die in dieser Zeit gewachsenen Nägel und Haare, sowie die durch tägliche Abstreifungen der Haut mit Gummihandschuhen gewonnenen Schuppen gesammelt und ihren N-Gehalt bestimmt. Die hierbei gefundenen Werte sind außerordentlich klein und sicher so gering, daß sie bei der Aufstellung der N-Bilanz zu vernachlässigen sind. Nur des allgemeinen Interesses wegen gebe ich hier die Durchschnittswerte kurz an.

Die Kinder haben im Durchschnitt innerhalb 14 Tagen absolut 1,83 g an Horngebilden angesetzt resp. verloren, der N-Gehalt dieser Menge war 0,24 g. Das Durchschnittsgewicht der Kinder betrug 19,2 kg. Mithin war der N-Ansatz in den Horngebilden pro Tag 0,017 g und pro Tag und kg 0,0009 g, oder rund 1 mg. Der prozentische Gehalt an N der einzelnen Gebilde war, und zwar der Hautschuppen 3,596%, der Nägel 15,65% und der Haare 14,55%. Hammarsten (s. sein Lehrbuch, 1895) gibt als N-Gehalt von Menschenhaaren 17,14% und von Nägeln 17,51% an. Meine Werte sind etwas niedriger, aber doch sehr ähnliche. Ein Versuch, in gleicher Weise auch den durch den Schweiß dem Körper verloren gehenden N zu bestimmen, ist mir mißglückt, die hierbei gefundenen Werte waren sicher fehlerhafte und zwar zu hohe.

Schlußwort.

Die im vorhergehenden Kapitel genauer besprochenen Ergebnisse meiner Stoffwechselversuche an Kindern im 3.—6. Lebensjahre gewähren manchen neuen Einblick in das schwierige Gebiet der Ernährungsfrage in dieser Altersperiode und erweitern die Untersuchungen der früheren Autoren nach verschiedener Richtung. Die direkte calorimetrische Bestimmung der Ein- und Ausfuhr wird dem Arzte und Kliniker einen Anhalt geben, wie die Kraftzufuhr bei der Ernährung dieser kindlichen Altersklasse zu gestalten ist. Er wird weiterhin unter Berücksichtigung verschiedener körperlicher und seelischer Eigenschaften der Kinder, wie solche an der Hand der einschlägigen Tabellen von mir näher besprochen worden sind, in der Lage sein, die Ernährung in individueller Weise zu gestalten und dem jeweiligen Zustand der Kinder anzupassen. Im großen und ganzen ist die Nahrungsaufnahme pro kg meiner Versuchskinder eine überraschend reichliche und entspricht etwa der des Säuglings im ersten Lebenshalbjahre. Der Kraftwechsel gibt ein Bild (sozusagen in physiologischer Weise einen Ausschnitt) aus den Ernährungsverhältnissen von Kindern, welche sich gesundheitlich wohl befanden und ihren im allgemeinen sehr guten Appetit nach Verlangen stillen konnten. Der Eiweißkonsum meiner Versuchskinder ist etwas niedriger als der von allen früheren Autoren angegebene, aber immer noch ein sehr reichlicher im Vergleich zu dem des Säuglings und des Erwachsenen. Wie schon früher erwähnt, steht die Eiweißaufnahme in sehr enger Beziehung zu der Gesamtnahrungsaufnahme, im allgemeinen haben meine Versuchskinder augenscheinlich aber unter den ihnen gereichten Speisen die N-haltigen bevorzugt. Über den Eiweißbedarf läßt sich aus meinen Versuchen kein Schluß ziehen, es ist bei der hohen Kraftzufuhr der Kinder nicht zu beurteilen, wie weit der N-Konsum hätte herabgesetzt werden können, um trotzdem eine gleich gute N-Retention zu erzielen, wie sie meine Kinder aufzuweisen haben. Meine Versuche leiden unter dem Mangel, daß die Versuchszeit eine relativ kurze war (6 Tage), ein Mangel, der durch die sorgfältigen Wägungen in der Vorperiode einigermaßen ausgeglichen wird, sie gewinnen an Wert durch die große Zahl der gleichzeitig untersuchten Kinder, wodurch die berechneten Durchschnitts-

werte an Genauigkeit gegenüber anderen weniger ausgedehnten Versuchsreihen den Vorzug verdienen. Individuelle Eigentümlichkeiten sind naturgemäß sehr gut ausgeglichen worden.

Für die von mir besprochenen Beziehungen zwischen einigen Eigenschaften der Kinder und ihrem Stoffwechsel sind meine Versuche noch gering an Zahl und bedürfen gewiß der Fortsetzung, da es gerade bei Stoffwechselversuchen ungemein schwierig ist, Zufälligkeiten auszuschließen. Immerhin geben meine Versuche doch eine Anregung, bei der Nahrungszufuhr die individuellen Eigenschaften der Kinder zu berücksichtigen, und stellen den ersten Versuch in diesem Sinne dar.

Der von mir berechnete wahre Nährstoffbedarf der Kinder wird als Durchschnittswert der Wahrheit nahe kommen, die bei einigen Kindern sicher ungewöhnlich hohen resp. niedrigen Werte gleichen sich gut aus.

Es werden noch viele Untersuchungen notwendig sein, um den N und Kraftwechsel im späteren Kindesalter genau kennen zu lernen; im besonderen erscheint es mir wünschenswert, auch weiterhin möglichst verschiedenartige Kinder zu solchen Versuchen zu benützen. Ob der Eiweißbedarf der Kinder jenseits des ersten Lebensjahres wirklich, wie es neuerdings Siegert behauptet, nur die knappe Hälfte der bisher durch zahlreiche exakte Stoffwechselversuche gefundenen Eiweißaufnahme beträgt, wird die Zukunft lehren.

Literatur.

1) P. Albertoni und J. Novi, Pflügers Archiv f. Physiol. **56**, 213, 1894.
2) W. O. Atwater und C. F. Langworthy, A Digest of Metabolism Experiments. U. S. Department of Agrikulture, Office of Experiment Stations, Bulletin No. 45, Washington.
3) a) A. Baginsky und Dronke, Beiträge zur Ernährung kranker Kinder der vorgeschrittenen Altersstufen. Arch. f. Kinderheilk. **16**, 388, 1893.
   b) A. Baginsky und P. Sommerfeld, Weitere Beiträge zur Ernährung usw. Ibidem, **23**, 119, 1897.
4) Barral, Annal. Chim. et Phys. ser. 3, **25**, 130, 1849. (Zitiert nach Atwater und Langworthy.)
5) Wilhelm Camerer, Der Stoffwechsel des Kindes von der Geburt bis zur Beendigung des Wachstums. 2. Aufl., Tübingen 1896.

6) H. Chittenden, Physiological Economy in Nutrition etc. New York 1904.
7) Cronheim und Müller, Versuche über den Stoff- und Kraftwechsel des Säuglings usw. Zeitschr. f. diät. u. physikal. Ther. **6**, Heft 1 u. 2, 1902 u. 1903.
8) Sophie Hasse, Untersuchungen über die Ernährung von Kindern im Alter von 2—11 Jahren. Zeitschr. f. Biol. **18**, 553, 1882.
9) O. Herbst, Beiträge zur Kenntnis normaler Nahrungsmengen bei Kindern. Jahrb. f. Kinderheilk. **46**, 245, 1898.
10) Heubner, Energiebilanz des Säuglings. Zeitschr. f. diät. u. physikal. Ther. **5**, Heft 1, 13, 1901.
11) Kallmann, Arch. f. Physiol. **112**, Heft 11 u. 12, 561, 1906.
12) Kellner, Die Ernährung der landwirtschaftlichen Nutztiere. Berlin 1906.
13) a) A. Magnus-Levy und Falk, Der Lungengaswechsel des Menschen in verschiedenen Altersstufen. Arch. f. Anat. u. Physiol., Suppl.-Bd., 314, 1899.
b) Magnus-Levy, Physiologie des Stoffwechsels. Im Handb. d. Pathol. d. Stoffw. von C. Noorden, 1906.
14) Meeh: Zeitschr. f. Biol. **15**, 448, 1879.
15) a) Rubner, Einfluß der Körpergröße auf den Stoffwechsel. Zeitschr. f. Biol. **19**, 535, 1883.
b) Derselbe und Lewaschew, Arch. f. Hygiene **29**, 1, 1897.
c) Derselbe und Heubner, Zeitschr. f. Biol. **36**, 1, 1898.
d) Derselbe, Ibidem, **38**, 315, 1899.
e) Derselbe, Ibidem, **42**, 261, 1901.
f) Derselbe, Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung, 1902.
g) Derselbe, Beiträge zur Ernährung im Knabenalter, 1902.
16) Schabanowa, Jahrb. f. Kinderheilk. **14**, 281, 1879.
17) Schreuer, Arch. f. Anat. u. Physiol. **1901**, 290 und ibid. **1902**, 299 u. 303.
18) Schwenkenbecher, Arch. f. klin. Med. **79**, 30, 1903.
19) Siegert, Der Nahrungsbedarf des Kindes jenseits des 1. Lebensjahres. Verhdl. d. Ges. f. Kinderheilk., Stuttgart 1906.
20) F. Tangl, Beitrag zur Kenntnis des Energiegehaltes des menschlichen Harns. Arch. f. Anat. u. Physiol., Suppl.-Bd., 251, 1899.
21) Uffelmann, Handb. d. Hygiene des Kindes, Leipzig 1881.
22) Vierordt, Physiologie des Kindesalters in C. Gerhardts Handb. d. Kinderkrankh. 1881, 206.
23) N. Zuntz und seine Mitarbeiter, Bergklima und Höhenwanderungen, Berlin 1906.

Eiweiß-Stoffwechsel beim Hund.

I. Eiweiß-Stoffwechsel bei niedriger Stickstoffnahrung.

Von

Emil Österberg und Charles G. L. Wolf.

(Aus dem Departement of Chemistry, Cornell University Medical College, New York City.)

(Eingegangen am 1. Juni 1907.)

Die Studien über normale Stoffwechselvorgänge, besonders die letzten Untersuchungen hierüber, dienten dem Versuch, zu zeigen, daß ein viel größerer Unterschied bei verschiedenen Tieren besteht, wie man gewöhnlich angenommen hatte. Daß gewisse Unterschiede existierten, war schon lange Zeit bekannt, z. B., daß der Hund die Fähigkeit besitzt, die im intermediären Stoffwechsel entstehende Harnsäure fast vollständig zu verbrennen (1).

Man findet indessen, daß gewisse sehr bedeutende Abweichungen von der Regel auch bei verschiedenen Tieren vorkommen. Ein Mensch mit einer normalen Fettmenge reagiert auf den Hungerzustand mit einer sehr beträchtlichen Acidosis (2). Selbst in Fällen von kurzdauernden Hungerzuständen sind die Mengen von Acetonkörpern, Acetessigsäure und β-Oxybuttersäure sowie von Aceton, erheblich. Andererseits ist der Hund anscheinend unfähig, im Hunger Acetonverbindungen zu bilden, außer nach voraufgegangener Behandlung mit Phloridzin (3).

Das Schwein scheint dem Menschen im Stoffwechsel näher verwandt zu sein, da bei ihm ein einfaches Hungernlassen genügt, um das Auftreten der gleichen Verbindungen im Harn herbeizuführen (4).

Durch die neuesten Arbeiten über den Nucleinstoffwechsel erhielten wir Aufschluß über interessante Verschiedenheiten, die in unerwarteter Weise durch die Arbeiten von Jones (5) und

Schittenhelm (6) zutage traten. Diese Beobachter kamen zu gerade entgegengesetzten experimentellen Resultaten, die sich dadurch erklären lassen, daß der eine Forscher mit Organen vom Schwein arbeitete und der andere mit solchen vom Rind. Die Fähigkeit, Aminosäuren umzusetzen, scheint gleichfalls von der Art des Versuchstieres abzuhängen.

Es ist bekannt, daß das Kaninchen nach Verfütterung von inaktiven Aminosäuren die rechtsdrehende Verbindung zerstört, während es quantitativ die linksdrehende Form ausscheidet. Andererseits ist der Hund fähig, beide Substanzen auszunutzen und nach Verabfolgung der inaktiven Substanz erscheint nichts oder nur wenig im Harn (7).

Die Schnelligkeit der Ausscheidung von Stickstoff ändert sich ebenfalls bei verschiedenen Arten; z. B. fand Falta, daß der menschliche Organismus im Stickstoffgleichgewicht 3 und selbst 4 Tage benötigt, um eine gewisse Menge in Form von Eiweiß supperponierten Stickstoffs auszuscheiden, während sich beim Hund der ähnliche Vorgang in einer viel kürzeren Zeit vollzieht.

Die Arbeiten, die im hiesigen Laboratorium während einiger Jahre ausgeführt wurden, sind hauptsächlich auf die Frage gerichtet, ob es möglich ist, ganz allgemein Stoffwechselstörungen durch eine Untersuchung des Harns festzustellen. Es erwies sich im Laufe dieser Arbeiten als nötig, die Untersuchung gewisser Fälle experimenteller Vergiftung von Tieren aufzunehmen (9); und bei Stoffwechselversuchen dieser Art wurde gefunden, daß die einschlägigen Literaturangaben für vergleichende Betrachtungen so unzulänglich waren, daß wir uns entschlossen, das Verhalten von normalen Hunden unter möglichst extremen Ernährungsbedingungen nochmals zu prüfen und die so erhaltenen Resultate als Richtschnur für den Vergleich in der angegebenen Hinsicht zu nehmen. Es war dieses um so notwendiger, als Folin (10) in einer neuen Serie von Arbeiten über den normalen Stoffwechsel des Menschen sehr auffallende Veränderungen in der Stickstoff- und Schwefelausscheidung in der Norm und unter verschiedenen Ernährungsbedingungen nachweisen konnte.

Es ist uns nicht entgangen, daß Schlüsse aus dem pathologischen Stoffwechsel im Hinblick auf Verteilung von Stickstoff (11) und besonders hinsichtlich der Schwefelausscheidung

gezogen sind (12), welche vom Standpunkt des Hungerstoffwechsels angesehen oder in Rücksicht auf die Frage des Minimums der Eiweißkost nicht die ihnen zuerteilte Bedeutung haben können, wenn man Stoffwechselergebnisse an normalen Individuen unter entsprechenden Bedingungen wie bei den pathologischen Fällen in Betracht gezogen hätte. Es war deshalb dringend notwendig, die normalen Bedingungen für den Hund so sicher wie möglich festzustellen.

In der oben angeführten Reihe von Arbeiten hat Folin auf einige sehr bemerkenswerte Veränderungen aufmerksam gemacht, die in der Ausscheidung der Stickstoff- und Schwefelformen auftraten, wenn der Mensch von einer 15—20 g Stickstoff enthaltenden Nahrung zu eine Diät übergeht, die eine reichliche Calorienmenge, aber praktisch keinen Stickstoff enthält. Die Diät und die Bedingungen des Versuchs sind in mancher Hinsicht dieselben, wie die bei Siven (13) und Landergren (14) in ihren Stoffwechselversuchen mit niedrigem Stickstoffgehalt. Die Tabellen von Folin, die auf Grund der Harnanalysen vieler Individuen aufgestellt wurden, zeigen die vorkommenden Veränderungen sehr deutlich. Die Hauptresultate sind folgende:

Mit dem Sinken der Stickstoffausscheidung geht eine allmähliche Abnahme des Harnstoff-N und besonders eine relative Abnahme einher. Bezüglich des Ammoniaks trat eine absolute Abnahme ein, aber die relative Menge war im Vergleich zum Gesamtstickstoff bedeutend vermehrt. Dies wäre gänzlich der Fall gewesen, vorausgesetzt die Nahrung wäre eine solche gewesen, daß sie eine alkalische Asche ergeben hätte.

Die Haupttatsache, die sich aus diesen Beziehungen ergab, war die, daß der Harnstoff trotz zweifelloser Verminderung der absoluten Höhe der verschiedenen Stickstofformen die einzige Substanz war, die sich im Verhältnis zu der ganzen Stickstoffmenge relativ verminderte. In dieser Hinsicht unterschied sich der Harnstoff von dem Kreatinin, dem Ammoniak, der Harnsäure und von den unbestimmbaren Stickstoffsubstanzen.

Die Beziehung des Ammoniaks zum Totalstickstoff ist seitdem von einer Reihe von Forschern besprochen worden, unter ihnen auch von Schittenhelm (15), Macleod und Haskins (16). Ihre Ergebnisse werden besprochen werden, wenn wir zu unserem eigenen Resultate übergehen.

Bei purinfreier hoher sowie niedriger Stickstoffnahrung wurde eine mehr oder weniger veränderliche Harnsäureausscheidung beobachtet, und obgleich sich eine gewisse Beständigkeit in den Tabellen zu erkennen gab, war die Veränderung ausreichend, um Folin zu Zweifeln an der Angabe von Burian zu veranlassen (17), daß die Ausscheidung dieser Substanz bei purinfreier Nahrung bei normalen Individuen konstant sei.

Aus Folins Versuchen schien klar hervorzugehen, daß die Menge von ausgeschiedener Harnsäure bei hoher Eiweißnahrung, die keine Purine enthielt, größer war, als bei purinfreier Nahrung von genügendem Calorienwert, aber ohne Eiweiß. Diese Ergebnisse sind kürzlich von Leathes bestätigt worden (18).

Bezüglich des Kreatinins wurde indessen die Regelmäßigkeit beobachtet, daß es augenscheinlich absolut unabhängig von der Höhe der Stickstoffzufuhr war. Es ergab sich auch, daß im normalen Harn Kreatinin entweder gar nicht oder nur in beschränkten Mengen vorhanden ist. Der Stickstoff, der nach den vorhergegangenen fünf Analysen unbestimmt blieb, und der mit „unbestimmten“ oder „Rest“-Stickstoff bezeichnet wird, war auch in der Menge viel konstanter, als man *a priori* anzunehmen geneigt war.

Eine ähnliche Prüfung wurde hinsichtlich der Schwefelausscheidung vorgenommen; es zeigte sich, wie man erwarten konnte, daß sich die Gesamtschwefelausscheidung der Gesamtstickstoffabscheidung eng anschloß, und daß die relative und absolute Menge der verschiedenen Schwefelformen einem Wechsel unterworfen war, der in vieler Hinsicht dem der Stickstofformen ähnelte.

Die relative Menge, sowohl der totalen Schwefelsäure wie auch der der Sulfate, zeigte eine bedeutende Abnahme, ähnlich der, die man hinsichtlich der Harnstoffproduktion beobachtet hatte. Die absolute Menge der Ätherschwefelsäuren nahm ab, aber die Ausscheidung von neutralem Schwefel zeigte eine Konstanz, die nur derjenigen des Kreatinins gleichkommt. Folin neigte zu der Annahme, daß die Veränderungen in der Ausscheidung des neutralen Schwefels teilweise aus Fehlern in den analytischen Methoden herrührten, und behauptete, daß er bei Anwendung von exakteren Methoden in der letzten Arbeit möglicherweise eine fast vollständige Regelmäßigkeit in der absoluten Abscheidung dieser Schwefelform hätte zeigen können.

Durch die erwähnten analytischen Ergebnisse wurde Folin veranlaßt, eine neue Theorie des Stoffwechsels aufzustellen, und besonders eine der Harnstoffbildung, die sich erheblich von den Theorien Pflügers und Voits über den Stoffwechsel im allgemeinen und die Harnstoffbildung im besonderen unterscheidet, wie überhaupt von allen früheren Hypothesen hierüber.

Als allgemeine Theorie des Stoffwechsels ist sie von denjenigen älterer Forscher insofern sehr verschieden, als sie endogenen und exogenen Stoffwechsel in zwei Phasen trennt, von denen die erstere besonders durch die Bildung von Kreatinin und neutralem Schwefel dargestellt wird. Der exogene Stoffwechsel wird durch die Bildung des Harnstoffs und der Alkalisulfate charakterisiert. Es wurde indessen nicht daraus gefolgert, daß der Harnstoff der einzige Repräsentant des exogenen Stoffwechsels ist, aber es ist unbestimmt, welchen Anteil der endogene Stoffwechsel an der Harnstoffbildung nimmt.

Hinsichtlich der Harnstoffbildung unterscheidet sich die Theorie wesentlich von den früheren, indem sie der Hydrolyse die ganze Arbeit bei der Bildung dieser Substanz überläßt. Man schloß daraus, daß — soweit der stickstoffhaltige Teil des Eiweißmoleküls in Betracht kam — die Oxydation keine Rolle bei der Harnstoffbildung spielte.

Es bestätigte sich nicht, daß Oxydationsprozesse bei der Bildung der letzten Ausscheidungsprodukte vollständig unbeteiligt sind, aber man nahm an, daß der Umfang, den dieser Prozeß einnimmt, im Vergleich zu der eintretenden hydrolytischen Spaltung klein sei.

Da dieser Schluß mit der Ansicht des einen von uns über gewisse pathologische Verhältnisse im Einklang stand, war der Versuch sehr wichtig, Folins Resultate auf einem andern experimentellen Wege zu bestätigen.

Der Gesichtspunkt, den wir im Auge hatten, und den wir für das Studium des pathologischen Stoffwechsels zu verwerten suchten, ist folgender:

Viele Pathologen und Kliniker haben angenommen, daß in gewissen anomalen Zuständen ein Prozeß eintritt, den man mangelhafte Oxydation nennt (19), und diese Theorie wurde während der letzten Jahre vielfach geltend gemacht, jedoch ohne irgend eine entscheidende Begründung zugunsten ihrer Annahme.

Es ist ferner ausgesprochen worden, daß man mit mangelhafter Oxydation die Veränderung erklären könne, die bezüglich der Stickstofformen bei Stoffwechselkrankheiten eintritt. Diese Veränderungen sollen sich in einer Abnahme des Harnstoffs im Verhältnis zum neutralen Stickstoff und in einer Zunahme des neutralen Schwefels im Verhältnis zum totalen Schwefel zeigen. Diese Ansicht scheint auf einer ungenügenden Würdigung unserer theoretischen und experimentellen Kenntnisse vom Einfluß der Diät und ungenügenden Nahrungsmenge auf das Verhältnis der verschiedenen Stickstoff- und Schwefelformen im Harn zu beruhen. Wenn außerdem Folin angibt, daß die Oxydation keine Rolle bei der Harnstoffbildung spielt, dann sollte doch ein Einfluß der mangelhaften Oxydation auf die Bildung dieser Substanz ausgeschlossen sein.

Wenn wir nun in einem gegebenen Falle unter dem Einfluß einer teilweisen Hungerperiode oder ungenügenden Nahrungszufuhr eine im Vergleich zum Total-N absolut wie relativ größere Menge von unbestimmtem Stickstoff finden, als man je im normalen Harn antrifft, so muß man, diese Erscheinung auf einen Vorgang zurückzuführen, den wir „unvollkommene Desamidierung“ nennen wollen. So scheint uns das Auftreten von Glykokoll, Leucin und Tyrosin im Harn bei akuter gelber Leberatrophie leichter durch die Annahme unvollkommener Desamidierung als durch die eines gestörten Oxydationsvermögens erklärt zu werden.

Es ist durch die Arbeit von Lang (20) und die vieler anderer Autoren bekannt, daß der Prozeß, der wesentlich zur Harnstoffbildung aus stickstoffhaltigen Gruppen des Eiweißmoleküls führt, darin besteht, daß die Aminogruppen vollständig oder teilweise abgespalten werden, während der darin enthaltene Kohlenstoff zu Kohlendioxyd und Wasser oxydiert wird. In von Noordens Handbuch hat Magnus-Levy (21) in seiner Abhandlung über die Physiologie des Stoffwechsels unabhängig hiervon einen ähnlichen Vorgang angenommen. Sicher ist, daß der respiratorische Quotient beim Menschen im Tierversuch (23) keine Resultate ergibt, die irgendwie zur Stütze der Anschauung dienen könnten, es bestände bei Vergiftungen, etwa durch Phosphor, wo man direkt größere Mengen Reststickstoff findet, eine Herabsetzung der Oxydationsfähigkeit.

Da es unsere Absicht ist, diese Theorie der mangelhaften Desamidierung experimentell an Tieren zu prüfen, so bildet die folgende Untersuchung an normalen Tieren die notwendige Einleitung.

Vom theoretischen Standpunkt ist auch ein vergleichendes Studium über Beeinflussung der Stickstoffverteilung von großem Interesse. Sollten bei Tieren, bei denen allem Anschein nach markante Stoffwechselunterschiede existieren, wie zwischen Mensch und Hund, gewisse sichere Gesetze betreffs der Zusammensetzung des Harns zutage treten, dann würden wir erwarten, in diesen Gesetzen einen sehr wichtigen Typus des Stoffwechsels zu finden, der von der Spezies unabhängig ist.

Es existieren zahlreiche Beispiele ungenauer Untersuchungen über die Schwefel- (25) und Stickstoffverteilung (24) beim Hunde, und viele ganz oder teilweise irrigen Behauptungen betreffs des Stoffwechsels sind in die Lehrbücher übergegangen. Dies rührt teilweise von einer unseres Erachtens falschen Methodik und teilweise daher, daß Experimente, die zu verschiedenen Zeiten angestellt waren, zu Vergleichen benutzt wurden, obgleich die Bedingungen bei den verschiedenen Untersuchungen nicht vergleichbar waren. Bei einer Arbeit, die das Bild eines normalen Stoffwechsels zeigen soll, ist es sehr wichtig, soviel Analysen wie möglich an derselben Harnprobe auszuführen.

Es ist außerdem ratsam, die Versuche wenn möglich an demselben Tiere zu machen und die Nahrungsmenge gleichartig zu wählen. Dies letztere ist nicht ganz möglich. Ganz abgesehen von der Frage einer größeren oder geringeren Resorption hat man bei der Zufuhr von Eiweißstoffen auf jeden Fall mit dem effektiven Calorienwert der Nahrung zu rechnen, der, wie Rubner (26) und andere gezeigt haben, ganz verschieden von dem Calorienwert ist, wie er in der calorimetrischen Bombe gemessen wird. Für die Zwecke der vorliegenden und der folgenden Arbeiten schien es ratsam, die Sachlage nicht durch die Berechnung des effektiven Wärmewertes noch zu verwickeln, sondern die Nahrung in möglichst gleichwertige Portionen einzuteilen, die aus den Nahrungsanalysen berechnet wurden, und die gewöhnlichen Wärmewerte zu benutzen, wie sie für Kohlehydrate, Fett und Eiweißstoffe in den calorimetrischen Tabellen angegeben sind.

Wenn man die ganze Stoffwechselfrage des Hundes behandelt, muß man vielen Faktoren Rechnung tragen. Es ist zu allererst wesentlich, zu wissen, wie sich der Hund bei mäßiger aber genügender Nahrungsmenge, bestehend aus einem zweckmäßig ausprobierten Gemisch von Kohlehydrat, Fett und Eiweiß, verhält. Dann ist weiter die Kenntnis von Wichtigkeit, welche Wirkung das vollständige Fehlen von Eiweißsubstanz in der Nahrung auf die Stickstoff-Schwefelverteilung hat. Die Wirkung von ausschließlich stickstoffhaltiger Nahrung verschiedener Art muß ferner studiert werden, und zuletzt muß eine Nahrung, die ganz aus Fett oder aus Kohlehydraten besteht, in Betracht gezogen werden.

Es ist sehr wichtig zu wissen, ob diese verschiedenen Substanzen oder Mischungen dieselbe Gesamtwirkung auf die Verteilung des Stickstoffs und des Schwefels im Harn haben, wenn sie in einer für die Bedürfnisse des Organismus ungenügenden Menge angewendet sind. Diese letzte Frage ist, glauben wir, sehr wichtig für die Deutung der Analysen des menschlichen Harns, und da es unmöglich ist, diese Bedingung beim Menschen so scharf wie beim Versuchstier zu kontrollieren, war dies auch einer der Hauptgründe, für die Vornahme der vorligenden Untersuchung.

Hungerzustand beim Menschen ist keineswegs der einfache Begriff, den man mit Nahrungsvorenthaltung zu verbinden, geneigt ist.

Wie Brugsch (27) und Bönninger sowie Mohr (28) gezeigt haben, hängt die Zusammensetzung des ausgeschiedenen Harns viel vom körperlichen Zustande des Individuums während der Fastperiode ab. Brugsch zeigte, daß Personen, die eine große Menge Körperfett haben, dieses Material zur Verbrennung brauchen und enorme Mengen von Acetonkörpern in ihrem Harn entleeren, bei entsprechender Höhe der Ammoniakausscheidung. Andererseits verbrauchen Personen ohne Fettvorrat das Eiweiß und scheiden kleine Quantitäten Ammoniak und geringe oder gar keine Acetonmengen aus.

Da viele Forscher, die auf dem Gebiet des anomalen Stoffwechsels arbeiten, versucht haben, Harnanalysen ohne Berücksichtigung jener Faktoren zu verwerten, so scheint uns noch viel Arbeit nötig, um soviel wie möglich die Bedeutung der

Veränderungen zu würdigen, die ein einfacher Nahrungswechsel in der Verteilung des Stickstoffs und Schwefels im Harn hervorbringt, unabhängig davon, ob irgend eine spezielle pathologische Veränderung besteht.

Außerdem scheint aus der neuesten Berechnung von Schulz (29) hervorzugehen, daß ein besonderer regulierender Mechanismus im Hungerzustande tätig ist, wodurch während des Fastens der Energieverlust materiell sehr vermindert wird, tatsächlich um 50% gegen die unter normalen Ernährungsbedingungen obwaltenden Verhältnisse. Diese Wirkung ist auch aus der Art der Verteilung des Stickstoffs und Schwefels zu ersehen.

Wenn in diesem Fall wirklich eine in den Harnanalysen sich offenbarende Abnahme im Oxydationsvermögen des Organismus besteht, sollte man, wenn die Ansichten von Zweifel richtig sind, eine bedeutende Zunahme des Verhältnisses vom neutralen Schwefel zum Gesamtschwefel erwarten und auch eine relative Zunahme des früheren Verhältnisses, wenn die verminderte oxydative Fähigkeit für die Regulierung des Stoffwechsels bei längerem Hungerzustande in Betracht kommt. Soviel wie wir wissen, gibt es keine Arbeit, die diese Ansicht bestätigt.

Die Versuche am hungernden Hund wurden hauptsächlich im Hinblick auf das Stickstoffgleichgewicht angestellt. Einige Forscher, wie z. B. Kolpachka (30), haben sich tatsächlich bemüht, Beziehungen zwischen Stickstoff-, Schwefel- und Phosphorausscheidung im Verlaufe einer Nahrungsveränderung und während einer Hungerperiode festzustellen. Kolpachka glaubte, eine beinahe feste Beziehung zwischen Stickstoff- und Phosphorsäureausscheidung im Hunger erkannt zu haben, und dieselbe Konstanz offenbarte sich bei Anwendung einer streng stickstofffreien Nahrung aus Stärke und Rahm.

Es ist indessen hervorzuheben, daß keine vollständigen Harnanalysen unter gleichbleibenden Bedingungen vorgenommen worden sind. Leider ist die Zahl der in Betracht kommenden Faktoren für den Hundeharn kleiner als beim Menschen. Für die Substanzen, welche teilweise Harnsäure, Allantoin und Kynurensäure zu ersetzen scheinen, existieren bis jetzt keine Methoden, welche ihre Ermittelung aus dem Harnanteil ermög-

lichen, der nach Ausführung der übrigen Bestimmungen übrig bleibt.

Stickstoffausscheidung unter verschiedenen Ernährungsbedingungen.

Viele Versuche sind über die Herabsetzung der Stickstoffausscheidung infolge Nahrungswechsels angestellt worden. Ein Zweck dieser Arbeit war, die Ausscheidung auf ein möglichst niedriges Maß zu bringen und die Wirkung dieses niedrigen Standes auf die Verteilung des Stickstoffes zu beobachten.

Für den Menschen existiren verschiedene Untersuchungen dieser Art. Sivens, Landergren und Folin haben einen sehr niedrigen Stand der Ausscheidung beobachtet, die in einem von Folins Fällen bei einem Manne von 55,6 kg Gewicht 2,7 g erreichte, einen Wert gleich 0,0486 g pro kg. Bei Landergren gelang die Herabminderung bei einer Person, die 71 kg wog, auf 4 g, was einer Stickstoffausscheidung von 0,057 g pro kg gleichkommt.

Beim Hunde sind zahlreiche Beobachtungen von niedriger N-Ausscheidung zu verwerten, und es ist sehr wahrscheinlich, daß die frühere Arbeit von Bischoff (31), wenn die analytischen Angaben zuverlässig sind, diese Form des Stoffwechsels zeigt.

Munks ältere Arbeit hierüber weist auch nach dieser Richtung (32). Dieser Forscher beobachtete während einer ausgedehnten Versuchsdauer am Hunde den Einfluß einer Nahrung, die genügend Calorien, aber wenig Stickstoff enthielt. Die niedrigste N-Ausscheidung, von der er berichtet, ist: 1,75 g bei einem Hunde von 10,5 kg Gewicht, nach einer Nahrungszufuhr entsprechend 100 Calorien per kg. Dies kommt einer Stickstoffausscheidung von 0,16 g per kg gleich.

In Munks Versuchen war das Stickstoffgleichgewicht sorgsam hergestellt, und es war möglich, dieses Gleichgewicht bei der sehr kleinen Ration von 0,24 g pro kg Körpergewicht aufrecht zu erhalten. Dies war indessen nur dadurch erreichbar, daß man den Nährwert des Futters zu der verhältnismäßig großen Höhe von 100 Calorien pro kg steigerte. Es ist wohl unnötig zu erwähnen, daß in keinem Fall das Stickstoffniveau so herabgesetzt wurde wie beim Menschen. Teilweise rührt dies zweifellos von dem

Unterschiede der Körperflächen her, wie Voit gezeigt hat, teilweise wahrscheinlich auch von spezifischen Unterschieden in den aktuellen Bedürfnissen des Organismus. Dies geht aus der Tatsache hervor, daß der Hund viel mehr Stickstoff bedarf, um das Gleichgewicht aufrecht zu erhalten, als ein Schaf von gleichem Gewicht[1]).

Unsere eigenen Werte für den Hund sind niedriger als irgend welche Beobachtungen, die wir in der Literatur finden konnten, und doch sind sie doppelt so groß wie die von Siven und Folin beim Menschen beobachteten.

Wir haben uns bemüht, die Stickstoffausscheidung auf das möglichst niedrigste Maß zu bringen und gleichzeitig die Wirkung der niedrigen Stickstoffausscheidung auf den allgemeinen Stoffwechsel zu beobachten. Zu diesem Zweck schien es uns genügend, eine stickstofffreie, leicht assimilierbare Nahrung zu verabfolgen, die genügend Fett und Kohlehydrate enthielt. In späteren Arbeiten werden wir die Resultate der Wirkungen veröffentlichen, welche die individuelle Disposition auf die Ausscheidung unter verschiedenen experimentellen Bedingungen ausübt.

Die Wirkung des Hungerns auf die Stickstoff- und Schwefelausscheidung bedarf noch eines weiteren Studiums. Teilweise hat diese Frage schon viele Forscher beschäftigt, und bemerkenswerte Ergebnisse sind schon bezüglich des Verhaltens der Hunde im Hunger erhalten. Die Ergebnisse, die wir in dieser Mitteilung bringen, sind nur ein kleiner Teil der im hiesigen Laboratorium ausgeführten Arbeiten, und wie ersichtlich, sind die Analysen nur für zwei Hungertage angegeben.

Diese Tage geben indessen ein sehr gutes Bild von dem Stoffwechsel beim Hund in der ersten Woche, in der ihm die Nahrung vorenthalten ist. Die weiteren Folgen des Hungernlassens werden wir später zeigen.

Es ist nichts besonders Neues an der Aufzeichnung dieser Versuche. Schon im Jahre 1857 haben Bischoff und Voit sehr sorgfältige Veränderungen in der Nahrungszufuhr vorgenommen, um den Einfluß der bestimmten Teile der Nahrung auf den Stoffwechsel zu ergründen (33).

---

[1]) Voit, Herrmanns Handbuch d. Physiol. 6, 1, 528.

Plan der Untersuchung.

Der Plan der Untersuchung war, Tieren im Anfangsstadium des Hungerns Nahrung zu geben, die praktisch keinen Stickstoff, aber eine genügende Menge von Kohlehydraten und Fett bei einem Nährwert von 80 Calorien pro Kilo enthielt, und die Wirkung dieser Diät auf den Stoffwechsel zu prüfen. Nach einwöchentlicher Verabfolgung dieser Nahrung wurde eine reichliche Menge Eiweiß in Form von Casein gegeben. Die Wirkung dieser hohen Stickstoffzufuhr wurde vier Tage lang in der folgenden Hungerperiode beobachtet.

Der Plan beim zweiten Experiment war ähnlich, nur daß am Ende der stickstofffreien Diät von 80 Calorien der Nährwert der Nahrung verdoppelt wurde, also auf 160 Calorien pro Kilo. Zweck unseres Versuches war, auf eine erhöhte Schutzwirkung zu fahnden, welche eine Kohlehydratfettnahrung im Überschuß ausüben würde. Diese außergewöhnlich große Calorienmenge wurde während 4 Tagen verabfolgt und der Unterschied notiert. Dann wurde Casein gegeben und während 4 Tagen des Hungernlassens beobachtet.

Die Versuchstiere waren Hündinnen, die vorher mit Hundekuchen gefüttert waren und sich in gutem Ernährungszustande befanden.

Die Falcksche (34) Operation war ausgeführt worden. Die Tiere wurden in passenden Stoffwechselkäfigen gehalten, die eine Trennung des Harns von den Faeces erlaubten, und einmal täglich wurde der Harn durch Katheterisieren gewonnen. Für eine möglichst genaue „Abgrenzung“ des Harns war Sorge getragen. Die Zeit der Katheterisation schwankte nicht um 5 Minuten während 24 Stunden. Die Genitalien wurden sorgfältig mit einer schwachen Lysollösung gewaschen, die Blase mit sterilem Wasser ausgespült, und es wurden, um soweit wie möglich einer Infektion vorzubeugen, einige Kubikzentimeter von 5 prozentiger Borsäurelösung in die Blase eingespritzt und darin gelassen. Peinliche Aufmerksamkeit wurde den Käfigen gewidmet. Die Flasche, in die der Harn hineinkam, enthielt einige Kubikzentimeter einer Mischung von Thymol und Chloroform. Wir erwähnen diese selbstverständlichen Einzelheiten, um den Leser zu überzeugen, daß eine Veränderung in der Zusammen-

setzung des Harns tatsächlich dem Stoffwechsel zuzuschreiben war und nicht einer Zersetzung. Die Nahrung bestand aus Maisstärke, die mit Wasser bis zur Bildung eines dicken Breies erwärmt war. Dieser Brei wurde dann mit einem Malzauszug bis zum Verschwinden der Dickflüssigkeit auf 60—70° erwärmt. Die Wirkung der Diastase wurde durch kurzdauernde Erhitzung auf 90° unterbrochen.

Die Bildung einer beträchtlichen Menge von Maltose verhinderte eine erhebliche diastatische Wirkung im Darmkanal; während des ganzen Versuches wurde keinerlei Verdauungsstörung beobachtet.

Die Stärke wurde mit dem Rahmgemisch in der Kälte in fest verschlossenen Flaschen aufbewahrt. Stickstoff- und Fettbestimmungen wurden an der Mischung ausgeführt. Die Menge der angewandten Stärke wurde durch eine Analyse der ursprünglich benutzten Stärke bestimmt. Aus diesen Zahlen wurde der Calorienwert der Nahrung berechnet. Die Nahrung wurde von den Tieren gern genommen und zu einer Zeit gegeben, wo der Hund für den Tag gewogen war. Das Casein war ein Handelsartikel, der 12,5% Stickstoff enthielt.

Wir konnten keine Essigsäure in diesem Casein entdecken, aber die Waschwässer reagierten sauer auf Lackmuspapier. Eine Bestimmung der Säure, durch Titration bei Gegenwart von Phenolphthalein als Indicator, ergab für 10,0 g Casein einen Gehalt entsprechend 17,5 ccm $^{n}/_{10}$ Alkali. Dies wäre 0,131 g Ammoniak für die 125 g angewandten Caseins äquivalent.

Es ist bekannt, daß die Zufuhr organischer Säuren in der Regel die Ammoniakausscheidung nicht vergrößert, sondern da die Höhe der Ammoniakausscheidung zurückgeht, muß man versuchen, eine Erklärung zu geben. Es ist nämlich möglich, daß der hohe Phosphorgehalt des Caseins einigermaßen die erhöhte Ammoniakabscheidung begünstigen könnte.

Welche Wirkung dieser Typus von Eiweißstoffen auf die Ammoniakausscheidung hat, kann nur durch ein zweites Experiment bestimmt werden, in welchem Eieralbumin oder irgend ein ähnlicher Eiweißstoff angewandt wurde. Schittenhelm neigte bei seinen Versuchen über Verfütterung von Aminosäuren und deren Wirkung auf die Ammoniakausscheidung zu der Ansicht, daß eine gewisse Menge des ausgeschiedenen Ammoniaks

auf die Acidität der Aminosäuren selbst zurückzuführen sei. Wenn dies der Fall ist, mag die Acidität des Caseins teilweise zur Zunahme des Ammoniaks nach Verabfolgung dieses Eiweißkörpers beitragen.

Die folgenden Methoden wurden bei den Bestimmungen angewandt. Für Ammoniak (35) Folins Verfahren; für Harnstoff Folins Methode (36); für Kreatinin und Kreatin Folins Methode (37). Die Menge des unbekannten Stickstoffs erhält man durch Subtraktion der vier übrigen Daten von der Quantität des Totalstickstoffs, der nach Kjeldahl mit Kaliumsulfat und Kupfersulfat als Katalysatoren bestimmt wurde. Die Methoden der Schwefelbestimmungen waren die von Folin angegebenen (38).

Es mag an dieser Stelle hervorgehoben werden, daß die Bestimmung der Ätherschwefelsäuren aus der Differenz anstatt direkt sehr vorteilhaft ist, besonders in Fällen, wo die Harnmenge beschränkt ist, gemäß der kleineren Urinquantität, die für die Bestimmung nötig ist.

Die sehr zahlreichen Kontrollanalysen, die wir gemacht haben, zeigen die große Genauigkeit der benutzten Verfahren der N- und S-Bestimmungen, vorausgesetzt, daß alle Einzelheiten sorgfältig beachtet wurden.

Alle Stickstoffbestimmungen sind doppelt gemacht und stimmten stets völlig überein.

Wirkung von Kohlehydraten und Fett auf den Eiweißstoffwechsel. Das Gewicht.

Obgleich diese Tiere genug Nahrung bekamen, muß bemerkt werden, daß in beiden Fällen während des Versuchs eine Gewichtsabnahme eintrat, die später bei gemischter Kost wieder eingeholt wurde.

Dies ist sowohl bei den Ergebnissen von Folin beobachtet, als auch bei den ausgedehnten Versuchen Chittendens (39). Diese Gewichtsabnahme tritt ersichtlich während der ersten Wochen der niedrigen Eiweißnahrung ein; darnach bleibt das Körpergewicht praktisch konstant.

Harnvolumen.

Wie gewöhnlich, nahm das Volumen während der Hungerperiode ab. Mit dem Übergang zur Kohlehydrat- Fettnahrung nahm das Volumen zu.

Eine spätere Zunahme trat auch bei der Caseinnahrung ein. Die zwei folgenden Hungertage setzten schnell das Volumen herab. Bei dem ersten Versuch wurde dem Tiere Wasser nach Belieben gegeben. Bei der folgenden Untersuchung, wo das Harnvolumen stark vermindert war, wurde ein Versuch gemacht, die Menge dadurch zu erhöhen, daß man Wasser unter Zusatz einer kleinen Menge Milch verabfolgte. Tiere, die Wasser zurückweisen, nehmen diese Mischung gern. Wir fanden dies außerordentlich nützlich, doch können wir keine Auskunft darüber geben, wer zuerst auf diese Idee verfallen ist.

Gesamtstickstoff.

Hund Nr. 399 hatte 2 Tage gehungert; während dieser Zeit war der Harn nicht analysiert worden. Nach Zufuhr von 80 Cal. in Form von Fett und Kohlehydraten wurde ein Fallen in der Höhe der Stickstoffausscheidung im Vergleich zur Hungerperiode beobachtet, und die Stickstoffabscheidung erreichte während des Versuchs hier ihren niedrigsten Stand. In einer neuen Arbeit von Johanssen und Hellgren (40) ist behauptet worden, daß bei ausreichend angehäuftem Glykogen der Stickstoffstoffwechsel nicht vermindert wird. Der Versuch, in dem der Hund Nr. 399 reichlichen Glykogengehalt besaß und doch seine Stickstoffausscheidung bei Zufuhr von Kohlehydrat und Fett abnahm, steht mit den Angaben jener beiden Autoren in Widerspruch.

Nach Zulage von 15,7 g N in Form von Casein steigt sofort die Stickstoffausscheidung, aber man kann gleichzeitig eine Neigung des Tieres zur Stickstoffretention konstatieren. Wenn man die durchschnittliche Menge für einen Hungertag abzieht, nämlich 1,5 g, dann waren 10 g von den dem Hunde Nr. 391 verabfolgten 15,7 g Stickstoff bis zum 2. Tage zurückgehalten. Bei dem Hund Nr. 399 waren 11,4 g reteniert. Ein Teil dieses Stickstoffes wurde am 2. Tage ausgeschieden und eine die Norm übersteigende Ausscheidung ist auch am 3. Tage noch zu bemerken gewesen. Dies stimmt auch mit den Angaben von Voit und Falta (41)

überein. Dieser letzte Forscher konnte durch die Methode der Eiweißsuperposition die Ausscheidung einer bestimmten Menge Casein bis zum 5. Tag verzögern.

Gesamtharnstoff und Ammoniakstickstoff.

Wir sind geneigt, diesen Wert für sehr wichtig zu halten, und glauben, daß ihm mehr Aufmerksamkeit zugewandt werden sollte, als dies gewöhnlich geschieht. Bezüglich der zurzeit eifrig studierten Stoffwechselvorgänge beim Tier gibt allem Anschein nach der Gesamtharnstoffwert wichtigere Aufschlüsse über die N-Abspaltung, als man aus der Ammoniakbestimmung entnehmen kann.

Wie früher erwähnt, hat der eine von uns die Behauptung aufgestellt, daß die erwiesenermaßen unter pathologischen Bedingungen bestehenden Veränderungen in der Stickstoffausscheidung auf eine verminderte Desamidierungsfähigkeit zurückzuführen sind, die am besten durch die Beziehung des Harnstoff- plus Ammoniakstickstoffes zum Gesamtstickstoff zum Ausdruck kommen. Gleichzeitig ergab sich, daß dieses Verhältnis von einer großen Zahl am normalen Stoffwechsel beteiligten Faktoren abhängig ist, und daß körperliches Befinden, ungenügende Ernährung usw. diesen Wert verändern können.

Beim Hund muß man auf jeden Fall den Gesamtharnstoff als hauptsächlichen Ausdruck der desamidierenden Tätigkeit des Organismus betrachten. Dies ist beim Menschen nicht der Fall, denn die Harnsäure ist möglicherweise synthetischen Ursprungs. In welcher Ausdehnung dies der Fall ist, ist augenblicklich noch unbekannt. Andrerseits kann man den Harnstoff nicht ausschließlich als ein Produkt des exogenen Stoffwechsels ansehen, obgleich die Menge, die von endogenen Prozessen herrührt, unsicher ist. Der Eindruck, den man beim Lesen der kürzlich von Paton (43) veröffentlichten Arbeit empfängt, ist der, daß Folin den Harnstoff ausschließlich vom exogenen Stoffwechsel herleitet. Dies ist sicherlich nicht der Fall, aber wie erwähnt, bietet der endogene Teil für die Beurteilung seiner mutmaßlichen Menge keinen genügenden Anhalt.

In den interessanten Versuchen von Brugsch am Hungerkünstler Succi war dieses Verhältnis während des ganzen Versuchs fast konstant; dagegen stieg die relative Ammoniakmenge

während der Hungerperiode um 35% und sank der Harnstoff entsprechend.

Der Wert schwankte von 83,12 bis 91,64% des Gesamtstickstoffes. Was indessen noch mehr auffällt, ist die Tatsache, daß an dem Tage, an dem Succi 35,3% des Gesamtstickstoffs als Ammoniak ausschied, der Wert für Harnstoff plus Ammoniak 89,3% betrug. Es war ganz klar, daß man nicht mit einer Abnahme der Desamidierungsfähigkeit rechnen konnte.

Man kann nicht entscheiden, ob dieser hohe Koeffizient von der analytischen Technik herrührt. Es scheint indessen gewiß, daß die Resultate, die durch das Hungernlassen erreicht werden, nicht genau mit denjenigen von Folin und den unsrigen verglichen werden können, wo der Umsatz von Eiweiß soviel wie möglich durch Fett und Kohlehydrate geschont wird.

In Folins Versuchen schwankte dieses Verhältnis von 70% bei einer Ausscheidung von 3 g Stickstoff bis 89% bei einer Ausscheidung von 15 g Stickstoff.

In der vorliegenden Untersuchung sollte festgestellt werden, wie weit das Verhältnis beim normalen Hunde konstant ist. Die Veränderung beim einzelnen Tier ist viel größer als man *a priori* vermutet hätte.

Beim Tier Nr. 391 sieht man die allgemeine Wirkung, welche auf die Herabsetzung dieses Wertes durch eine N-freie Nahrung ausgeübt wird, ein Sinken von 85—91% des Hungerwertes auf 81% im Durchschnitt. Mit der Zulage einer großen Eiweißmenge steigt der Gehalt auf seinen höchsten Punkt, auf 95,5%, um nachher während der Hungerzeit wieder zu fallen.

Wie zu erwarten ist, erfährt die absolute Menge des so ausgeschiedenen Stickstoffs eine bedeutende Abnahme, sobald eine Schutzwirkung von Stärke und Fett ausgeübt wird.

Beim Hund Nr. 399 wurde die gleiche allgemeine Wirkung beobachtet. Man konnte vermuten, daß, wenn das Bestreben von Fetten und Kohlehydraten besteht, das Verhältnis herabzusetzen, man einen weiteren Fall bei der Zulage einer doppelten Calorienmenge erwarten dürfte, und deshalb wurde dieser Teil der Arbeit ausgeführt. Wie man sehen wird, wurde die entgegengesetzte Wirkung hervorgebracht. Mit einer Nahrung, die 160 Calorien per Kilo enthielt, stieg die Harnstoff- plus Ammoniakmenge auf 83%, obgleich der absolute Gehalt verringert war.

Wir wollen in dieser Arbeit keine Erklärungen für diese interessante Wirkung geben, obgleich man verschiedene Vermutungen hegen kann.

Man kann auch aus dem einzelnen Experiment keine allgemeine Regel aufstellen. *A priori* möchte man geneigt sein, das Entgegengesetzte vorauszusagen.

Man wird bemerken, daß als Folge der Resorption einer großen Stickstoffmenge jenes Verhältnis doch seinen hohen Wert am ersten Tag der Hungerperiode behält.

Ammoniakstickstoff.

Dieser Anteil bietet großes Interesse im Hinblick auf die Beziehungen, welche er zu den allgemeinen Problemen der Acidosis hat.

Es ist wohl bekannt, daß die Darreichung von Alkalien und leicht verbrennbaren organischen Säuren die absolute Ausscheidung dieses Teiles vermindert, aber augenblicklich ist die Frage des Nahrungseinflusses auf das Verhältnis jenes N-Anteils zum Totalstickstoff noch nicht vollständig entschieden. Folin zog aus einer Reihe von Analysen des Harns normaler Menschen den Schluß, daß die Ammoniakausscheidung bei niedriger Proteinnahrung relativ erhöht würde, obgleich Beispiele vorkamen, wo dies nicht der Fall war.

Schittenhelm (44) versuchte in einer Reihe von Experimenten den Einfluß der Stickstoffsuperposition bei Anwendung von Verbindungen zu zeigen, die auf die absolute und relative NH_3-Ausscheidung wirken; er schloß, daß, wenn man Protein und Aminssäuren als Nahrung gibt, das Ansteigen der absoluten Ammoniakmenge proportional der Stickstoffgabe ist.

Auf diese Weise bleibt das Verhältnis von Ammoniakstickstoff zum Gesamtstickstoff unverändert. Dies ist gewiß nicht bei jeglicher Diät der Fall, wie unsere Resultate zeigen. Selbst bei einer reichlichen Calorienmenge ist das Ammoniakverhältnis außerordentlich veränderlich, wie es auch die absolute Menge ist; während man sicher eine Zunahme an Gesamtammoniakstickstoff bei einer reichlichen Proteinnahrung erhält, steht diese Zunahme in keiner Weise im Verhältnis weder zur Einfuhr noch zur Ausscheidung vom Gesamtstickstoff; hierdurch sinkt das Verhältnis

des Ammoniaks zum Gesamtstickstoff bedeutend. Indessen findet man am Tage, der dieser großen Stickstoffgabe folgt, daß die Tiere mehr Ammoniak ausscheiden als am voraufgehenden Tage. Dies kann kaum ein Anzeichen von Hunger sein, denn der Caloriengehalt der Nahrung an den vorhergehenden Tagen genügte für die Bedürfnisse des Tieres.

Man kann also sehen, daß die wirklichen Hungerwerte beim Beginn des Versuches ebenso niedrig oder niedriger als an den fraglichen Tagen sind.

Schittenhelms Resultate zeigen, daß die Wirkung einer Caseinsuperposition in einem Sinken des Verhältnisses von relativem Ammoniak zum Gesamtstickstoff besteht. Der Gehalt für den ersten Tag ist 3,46 gegen 4,9 in der Norm; daß dieser Wert nicht konstant ist, wird durch die Veränderung des Verhältnisses während der Zeit der Caseinnahrung angezeigt, das in zwei aufeinanderfolgenden Tagen von 3,46 bis 5,62 differierte. Da das Verhältnis sich in dieser Ausdehnung verändert, kann es kaum gerechtfertigt erscheinen, aus dem Durchschnitt Schlüsse zu ziehen, besonders da der Normalwert zwischen den Extremen der Nahrungsperiode liegt.

Macleod und Haskins (45) haben auch in einer jüngst erschienenen Arbeit großen Zweifel in Folins Resultate gesetzt, und haben versucht, zu zeigen, daß der relative Wert der Ammoniakausscheidung mehr oder weniger von der Menge der Stickstoffzufuhr unabhängig ist. Sie schreiben Folins Ergebnisse der besonderen Art der Nahrung zu, und sehen die Stärke-Rahmnahrung als so außergewöhnlich an, daß sie das Ergebnis für ein anomales erklärten.

Unsere eigenen Ergebnisse berichtigen die Folins in vielen Einzelheiten. Die absolute Ammoniakstickstoffmenge, die während des Hungerstadiums ausgeschieden wurde, nahm im ganzen ab, eine Neigung zum Sinken wurde während des ganzen Versuches bis zum Tage der Caseinverabfolgung beobachtet. Dies ist besonders gut am Hund Nr. 399 zu sehen, der Hund Nr. 391 zeigt hingegen mehr oder weniger Abweichung, obwohl das Allgemeinbild dasselbe ist. Die absolute Abnahme in der Ammoniakausscheidung hält indessen mit dem Sinken des Gesamtstickstoffes nicht gleichen Schritt. Deshalb sieht man ein sehr deutliches Steigen des relativen Wertes während der ersten Tage

der Stärke-Fettnahrung und dabei eine Neigung zum Sinken während der letzten Tage dieser Diät. Was um so mehr in die Augen fällt, ist die Wirkung von großen Proteinmengen. Hier ist der Organismus anscheinend völlig imstande, die großen Ammoniakmengen zu Harnstoff umzusetzen, die bei der Desamidierung gebildet sind. Der absolute Ammoniakgehalt ist zweifellos gestiegen, aber der relative Wert ist von 14,8% auf 3,5% und von 17,4% auf 3,5% gefallen. Es ist möglich, daß, wenn die Acidität des angewandten Caseins zu der Zeit des Versuches neutralisiert und wenn diese Substanz gründlich ausgewaschen wäre, der absolute Ammoniakgehalt viel geringer gewesen, und daß infolgedessen der relative Wert weit hinter dem jetzt beobachteten zurückgeblieben wäre. Wir stimmen deshalb ganz mit Folin darin überein, daß die absolute Ammoniakstickstoffmenge sich mit der Eiweißzufuhr ändert, hingegen die niedrige Eiweißkost eine hohe relative Ammoniakausscheidung zur Folge hat.

Es mag noch erörtert werden, daß derselbe Einwand hinsichtlich der ungewöhnlichen Zusammensetzung der Nahrung gegen unsern eigenen wie gegen Folins Fall besteht, aber wir hatten bei vielen Analysen von menschlichen Harnen Gelegenheit, dieselbe allgemeine Zunahme im relativen Werte des Ammoniakstickstoffes bei einer niedrigeren Eiweißkost zu beobachten. welch letztere ganz anders als bei diesen hier beschriebenen Versuchen zusammengesetzt war.

Harnstoff.

In der Mehrzahl der Stoffwechselarbeiten ist die Hauptaufmerksamkeit dieser Fraktion gewidmet, teils weil sie einen großen Teil des ausgeschiedenen Stickstoffs ausmacht, teils weil man annimmt, daß der Harnstoff zu den wichtigsten Vorgängen des Proteinstoffwechsels in Beziehung steht. Es ist unnötig, uns an dieser Stelle mit einer Diskussion der Theorien betreffs seiner Bildung zu befassen, wir wollen nur erwähnen, daß die von Folin aufgestellte uns als die annehmbarste erscheint. Bei dieser schon erwähnten Theorie ist der Bildungsprozeß hauptsächlich einer Hydrolyse von $C-NH_4$- und $C-NH_2$-Gruppen, keiner direkten Oxydation zugeschrieben. Die experimentellen Stützen, die Folin beigebracht hat, um die Rolle des Harnstoffs im Stoffwechsel des Menschen aufzuklären, sind durch unsere eigenen Versuche am Hunde bestätigt.

Vielleicht nicht ganz gleichgültig für die Theorie der Harnstoffbildung ist die Beobachtung, die Folin kürzlich (46) bei der Kjeldahlreaktion gemacht hat. Diese Reaktion, die bisher im wesentlichen als eine Oxydation angesehen wurde, besteht mindestens zum Teil in einer Hydrolyse, denn die Destillate der Kjeldahlbestimmungen enthalten große Mengen von Alkylaminen, erkennbar an der Isonitrilreaktion. Bestünde der Prozeß in einer völligen Oxydation, so müßte man die gänzliche Verbrennung des Kohlenstoffes zu Kohlendioxyd erwarten. Seine wichtige Beobachtung über die Rolle des Wassers bei dem Verlauf der Zersetzung schwer verbrennbarer Substanzen, wie des Kreatinins, sind in gewissem Maße auch dazu angetan, jene Ansicht zu stützen (47).

Mit der Abnahme der Stickstoffausscheidung überhaupt ist notwendigerweise auch ein Sinken in der absoluten Menge des Harnstoffsstickstoffs verbunden. In dieser Hinsicht folgt der Harnstoff der Stickstoffausscheidung. Wenn man indessen die relativen Mengen bei der Stickstoffverteilung betrachtet, beobachtet man sehr bedeutende Veränderungen, jedoch nicht so bedeutende, wie man sie beim Menschen findet.

Das Verhältnis sinkt während des ersten Tages der Stärke-Fettnahrung gegen das beim Hungerzustande beobachtete, aber steigt an den folgenden Tagen wieder.

Während der Periode der verdoppelten Nahrungsmengen zeigt der Harnstoffkoeffizient nicht die bedeutende Abnahme, die man erwarten sollte, sondern hält sich in den Grenzen der vorhergehenden beiden Tage. Wir konnten deshalb nicht das zeigen, was wir erwarteten, nämlich: daß die Zunahme von Kohlehydraten und Fett weit über das für den Organismus erforderliche Maß hinaus das relative Verhältnis des Harnstoffs zum Gesamtstickstoff unter den Wert herabdrücken würde, der bei Abwesenheit von Eiweiß normal ist.

Die Ergebnisse stimmen mit denen von Noel Paton überein, in denen teils die Bohlandsche Methode, teils die Mörner-Sjöquistsche verwendet wurde.

Kreatinin.

Die bemerkenswerte Beständigkeit der Kreatininausscheidung beim Menschen wurde zuerst von Folin erkannt. Dieser Forscher

glaubt, daß die Kreatininausscheidung mehr als irgend eine andere Fraktion des Stickstoffs oder Schwefels ein Maß für den inneren, sogenannten endogenen Zellstoffwechsel des Organismus abgibt. Seitdem seine Arbeit veröffentlicht ist, sind seine Ergebnisse von zahlreichen Forschern für den Menschen (48) und für das Tier (49) bestätigt worden, und einer von uns hat in mehr als tausend Bestimmungen im Lauf einer Untersuchung über pathologischen Stoffwechsel seine Angaben bestätigen können. Gegenwärtig wird über die Rolle des Hungerns, der Muskelarbeit, des pathologischen Stoffwechsels usw. noch gestritten. Beim Hund haben wir auch widersprechende Ergebnisse; Paton z. B. glaubt, daß die Ausscheidung des Kreatinins nicht die Beständigkeit zeigt, die beim Menschen beobachtet wurde. Dieser Angabe können wir nicht zustimmen. Die Kreatininausscheidung weist bei der Zusammenstellung innerhalb der Versuchsfehler eine größere Beständigkeit auf, als Folin sie je beim Menschen beobachtet hat.

Kurz nach der Veröffentlichung von Folins Methode hatten wir Gelegenheit, eine Reihe von Untersuchungen auf Kreatinin im Hundeharn vorzunehmen, der so sorgsam wie möglich einige Wochen lang aufbewahrt war; wir waren erstaunt zu sehen, daß mehrere von den Harnen keine Spur dieser Substanz enthielten. Es ergab sich jedoch, daß die Harne leicht alkalisch waren, und es besteht die Möglichkeit, daß durch das Zusammentreffen von alkalischer Reaktion und der denkbaren Gegenwart von Fermenten schnell das Kreatinin in Kreatin umgewandelt worden ist. Wenn die Harne mit Chlorwasserstoffsäure erhitzt waren, stimmte die Menge des jetzt vorhandenen Kreatinins fast immer mit der überein, die im frischen Harne gefunden war.

Während bekanntlich die Umwandlung von Kreatinin in Kreatin *in vitro* nur schwierig vor sich geht, wird diese Reaktion beim Vorhandensein der Fermente anscheinend leichter bewerkstelligt, selbst bei Zimmertemperatur.

Deshalb sollten Bestimmungen von Kreatinin und Kreatin so früh wie möglich vorgenommen werden, um die Umwandlung des einen Körpers in den andern zu verhindern. Es hat deshalb den Anschein, als ob Paton mit Harnen gearbeitet hätte, in denen Kreatinin teilweise in Kreatin verwandelt war.

Noch viele andere Forscher haben die Kreatininausscheidung bei Hunden untersucht: unter ihnen auch Grüber (50), der die Methode durch Fällen mit Zinkchlorid zur Bestimmung anwandte. Er fand eine Abnahme in der Ausscheidung dieser Substanz um ein Zehntel der normalen Höhe schon nach zweitägigem Hungern. Dies ist sicherlich in unsern hier angegebenen Tabellen nicht der Fall. Zahlreiche andere Versuche über teilweises Hungern unter verschiedenen Bedingungen, deren Beschreibung in dieser Zeitschrift noch folgen wird, widersprechen der Arbeit von Grüber in jedem Punkte.

Es muß hervorgehoben werden, daß bei den Versuchstieren die Kreatininausscheidung pro Kilo Körpergewicht genau dieselbe war. Wenn man die Kreatininwerte der verschiedenen Tage zusammenzählt und durch das Körpergewicht des Hundes teilt, so findet man die Kreatininausscheidung für den Hund Nr. 391 zu 0,0068 g und für den Hund Nr. 399 zu 0,0069 g.

Folin hat die Vermutung ausgesprochen, daß, während die Kreatininausscheidung bei einem bestimmten Individuum konstant ist, die Schwankungen im Verhältnis zum Kilo Körpergewicht von der Menge des Fettes usw., die das Individuum hat, abhängen könnte. Dies ist sehr wahrscheinlich, und während die obenerwähnte Übereinstimmung zwischen den beiden Tieren möglicherweise ein Zufall ist, führen uns andere Werte bei normalen Hunden zu der Annahme, daß 0,0070 g Kreatininstickstoff pro Kilo dem Durchschnittswert für diese Tiere sehr nahe kommt, wenn sie sich im gewöhnlichen Ernährungszustande befinden.

Kreatin.

Man muß hervorheben, daß die ausgeschiedene Kreatinmenge außerordentlich gering ist. An vielen Tagen ergibt die Bestimmung von Kreatin und Kreatinin zusammen genau dasselbe wie für Kreatinin allein. Andererseits glauben wir, daß die kleine beobachtete Kreatinmenge tatsächlich im Harn vorhanden und nicht durch Versuchsfehler vorgetäuscht ist, trotz der Tatsache, daß diese Tiere eine von allen kreatinbildenden Substanzen freie Nahrung erhielten. Für den Augenblick muß die Frage unbeantwortet bleiben, welches die physiologischen oder pathologischen Bedingungen sind, auf die das Auftreten jener kleinen Kreatinmengen im Harn zurückzuführen ist, da dieser Punkt noch eine sorgfältige Erforschung verlangt.

Purinverbindungen und Harnsäure.

Die Tabellen, die wir bringen, enthaten keine Angabe über Ausscheidung von Purinkörpern. In den vorliegenden Versuchsreihen haben wir keine Bestimmung weder von Harnsäure noch von daneben vorhandenen Purinverbindungen vorgenommen. Der Grund hierfür liegt in den kleinen Harnmengen, die nach Ausführung der verschiedenen Analysen übrig geblieben waren.

Reststickstoff.

Nachdem die möglichen direkten Bestimmungen der Stickstofformen besprochen sind, bleibt nur noch die Stickstofffraktion zu betrachten, die, nach der voraufgegangenen Ermittlung von Ammoniak, Harnstoff, Kreatinin und Kreatin übrig bleibt. Diesem Teil des Stickstoffs ist schon viel Aufmerksamkeit gewidmet worden, und er entspricht genau, wie einer von uns an normalem Harn gezeigt hat, der Aminosäurenfraktion von Pfaundler und anderen.

Bis zur Veröffentlichung von Folins Analysen hatte unseres Wissens nach niemand nachdrücklich auf die große Unabhängigkeit hingewiesen, die in der Höhe der absoluten Ausscheidung dieser Gruppe von Substanzen im Verhältnis zur Gesamtstickstoffausscheidung besteht. In dieser Hinsicht gehört sie in dieselbe Gruppe mit Kreatinin und neutralem Schwefel. Gleichzeitig muß betont werden, daß weder der neutrale Schwefel noch der Reststickstoff mit dem Kreatinin genau vergleichbar sind. Dies entspricht nur der Natur der Sache. Die Substanzen, die den Reststickstoff im menschlichen Harn bilden, enthalten zahlreiche Verbindungen, von denen viele Schlacken der normalen Stoffwechselvorgänge darstellen.

Dies rechtfertigt in mancher Beziehung den Namen von Stoffwechsel-„Schmieren". Es ist indessen interessant und wahrscheinlich sehr wichtig, daß die absolute Menge dieser Rückstände in weitem Maße von der Menge des Stickstoffs unabhängig ist, der als Eiweißstoff zugeführt war.

Man wird aus unseren Tabellen ersehen, daß eine Konstanz besteht, die keine Beziehung zur Menge des ausgeschiedenen Stickstoffes hat. So wurden bie dem Hund Nr. 391 während des Hungerns bei einer Gesamtstickstoffausscheidung von 1,42 g 0,052 g ausgeschieden. Beim niedrigsten Stande der Stickstoffausscheidung,

0,573 g, wurde 0,177 g ausgeschieden, und auf dem höchsten Punkte, nämlich: 6,83 g, wurden nur 3,36 g ausgeschieden.

Beim Hund Nr. 399 wurde am ersten Tage der Stärke- und Rahmnahrung bei einer Stickstoffausscheidung von 1,573 g die sehr niedrige Menge von 0,022 g ausgeschieden. Als die Stickstoffausscheidung auf ihrem niedrigsten Werte war, auf 0,966 g, war die ausgeschiedene Menge dreimal höher als bei dem vorangehenden Fall, nämlich: 0,066 g. Während des Tages einer hohen Eiweißgabe wurden nur 0,152 g ausgeschieden.

Unsere Resultate entsprechen genau denjenigen Folins beim menschlichen Harn, indem sie zeigen, daß diese Stickstofffraktion im weiten Maße von der Gesamtstickstoffausscheidung unabhängig ist.

Folin bemerkt bei der Diskussion seiner Resultate, besonders des Teiles, der sich auf den endogenen Stoffwechsel bezieht, daß andere Tiere, z. B. der Hund, möglicherweise, einen weniger konstanten endogenen Stoffwechsel wie der Mensch haben. Unsere Resultate dürften zeigen, daß dieses Tier sich nicht sehr wesentlich hinsichtlich der Beständigkeit vom Menschen unterscheidet, mit der die Faktoren des endogenen Stoffwechsels, Kreatinin, Reststickstoff und neutraler Schwefel in Rechnung zu setzen sind. In der Tat ist die Beständigkeit ganz gleich derjenigen, die beim menschlichen Harn beobachtet wurde.

Es ist indessen wahrscheinlich, daß, die Ausscheidung für ein normales Individuum verhältnismäßig konstant bleibt, pathologische Bedingungen dagegen die Ausscheidung bedeutend verändern können.

Wie wir glauben, haben wir dies wiederholt an Harnanalysen bei Typhus, Lungenentzündung, Ekampsie und bei einigen Fällen von Alkoholismus beobachtet. In einer Arbeit mit Ewing (51) hat der eine von uns versucht, diese Tatsache zum Teil für die Deutung des Befundes der Harnanalysen heranzuziehen.

Schwefelverteilung.

Wie man erwarten konnte, gehen Schwefel- und Stickstoffausscheidung im großen und ganzen parallel, aber das Verhältnis beider zueinander ist nicht konstant. Beim Hund Nr. 391 erhielt man während des Hungerns ein Verhältnis von 6,3 zu 100. Während der Kohlehydrat- und Fettperiode wurden Schwan-

kungen beobachtet. Im ganzen blieb jedoch das Verhältnis dem Bilde der vollständigen Hungerperiode ähnlich. Bei der Caseinnahrung fiel das Verhältnis auf 4,65, obgleich das Verhältnis von Schwefel zu Stickstoff in der Nahrung 8,1 zu 100 betrug. War bei dem Tier eine sehr beträchtliche Stickstoffretention bemerkbar, so war eine verhältnismäßig noch stärkere Schwefelretention vorhanden. Schon bei früheren Untersuchungen über die Ausscheidung von Stickstoff und Schwefel hat man beobachtet, daß letzterer viel langsamer als der erstere ausgeschieden wird.

Die Beziehungen zwischen Stickstoff und Schwefel und zwischen ihren verschiedenen Ausscheidungsformen waren eine der Fragen, die schon in einer ganz frühen Periode der Stoffwechselforschung studiert wurde.

Clare (52) zeigte im Jahre 1854, daß die Schwefelausscheidung sich während des ersten und dritten Tages bei Pflanzenkost erheblich veränderte. Kunkel (53) fand eine Änderung im Verhältnis der einzelnen Schwefelformen bei qualitativer Veränderung der Nahrung. Wenn allein die Menge wechselte, trat keine relative Veränderung ein.

J. Munk (54) fand bei Hungerversuchen an Breithaupt ein konstantes Verhältnis von N : S = 14,7, welches sich als S : N zu 6,7 : 100 berechnet, eine Zahl, die dem von uns selbst erhaltenen Werte ziemlich nahe steht. E. und O. Freund (55) fanden bei ihrer Prüfung von Succis Harn eine Steigerung des Verhältnisses auf den Wert 17,3 : 1, während der erste Autor in der Arbeit von Cetti (56) den Wert von 15,1 : 1 erhalten hatte. Man wird sehen, daß, die Werte für den menschlichen Harn übereinstimmen, sehr beträchtliche Abweichungen dagegen beim Hunde auftreten, und zwar größere, als man den Fehlern der Methodik zuschreiben kann, obgleich es heute bekannt ist, daß die Methoden der Gesamtschwefelbestimmung fehlerhafter sind, wie man früher vermutete.

Beim Hund Nr. 391 ist das Verhältnis während der zwei Hungertage im großen und ganzen demjenigen ähnlich, das während der Schutzperiode von Kohlehydrat und Fett gefunden wurde. Beim Hund Nr. 399 ist der Wert für den ersten Tag höher als während der folgenden Tage, und man kann unmöglich sagen, ob dieser hohe Wert den vorhergehenden beiden

Hungertagen zuzuschreiben ist, oder ob es sich um eine zufällige Schwankung handelt, deren Grund man nicht weiß. Auf jeden Fall war der Wert bei dem Tier bei derselben Nahrung wenigstens 2% höher als beim vorhergehenden Tiere.

Wenn man die Menge der stickstofffreien Nahrung verdoppelte, wurde in den quantitativen Beziehungen des Schwefels zum Stickstoff keine Veränderung beobachtet. Bei der Zulage von 15 g Casein, das 15,7% Stickstoff und 1,27% Schwefel, d. h. im Verhältnis von 8,1 : 1 enthielt — dieser ist bemerkenswerterweise dem Werte nahezu gleich, den man bei der stickstofffreien Nahrung erhielt —, war ein plötzliches Fallen zu beobachten. Der Wert betrug nun 4,7 : 1 beim Hund Nr. 391 und 4,7 : 1 beim Hund Nr. 399. Augenscheinlich sucht ein Tier, das an einem ziemlich langen Hunger nach Stickstoff und Schwefel leidet, im Organismus den Schwefel beharrlicher zurückzuhalten als den Stickstoff. Teilweise mag dies von der Trägheit kommen, die bei der Ausscheidung des Schwefels im Vergleich zum Stickstoff beobachtet wurde (57). Andererseits ist, wie man an den folgenden Tagen sehen wird, ein Teil der Erscheinung zweifellos allein auf eine Retention zurückzuführen.

Nach den Protokollen wurde für Hund Nr. 399 nach Verabfolgung von 15,7 g Stickstoff und 1,27 g Schwefel an den folgenden beiden Tagen eine Stickstoffausscheidung von 11,0 g ermittelt, die 70,2% des Stickstoffs ausmachen, während von den 1,27 g Schwefel nur 0,606 g ausgeschieden wurde = 47,7% dieses Elementes.

Beim Hund Nr. 391 wurde bei Verabfolgung derselben Menge Stickstoff und Schwefel in den drei Tagen 12,6 g Stickstoff ausgeschieden, = 80,2%, während von den 1,27 g Schwefel nur 0,624 g = 49,1% ausgeschieden wurden.

Es kann gegen diese Art der Berechnung eingewandt werden, daß man den durchschnittlichen Ausscheidungswert des Hungerzustandes hiervon abziehen sollte. Bei dem sehr reichlichen Kohlehydrat- und Fettgehalt ist es jedoch unwahrscheinlich, daß an diesen drei Tagen — einer davon wies über 390 Calorien der Nahrung in Form von Casein auf — das Glykogen der Leber erschöpft sei, und so wäre es nicht zulässig, Hungerzustandswerte für diese Berechnungen anzuwenden. Währed das Verhältnis von Schwefel zu Stickstoff einigermaßen veränderlich ist,

bleibt die absolute ausgeschiedene Menge recht konstant, obgleich sie gewisse Schwankung aufweist. Nach Zufuhr der doppelten Calorienmenge an den Hund Nr. 399 ist eine entschiedene Abnahme in der ausgeschiedenen Schwefelmenge zu bemerken. Es scheint, daß durch den hohen Calorienwert der Nahrung dieselbe Schutzwirkung auf den Schwefel wie aus den Stickstoff ausgeübt wird. Daß dem so ist, geht aus der Tatsache hervor, daß das Verhältnis des Gesamtschwefels zum Gesamtstickstoff praktisch immer konstant bleibt.

Gesamt-Sulfat-Schwefel.

Bei der Kohlehydrat- und Fettnahrung tritt eine bedeutende Abnahme in der Ausscheidung des oxydierten Schwefels ein, die mit einer oder zwei Ausnahmen beständig während dieser ganzen Periode sinkt. Was jedoch bemerkenswerter ist, ist die Wirkung eines hohen Caloriengehaltes der Nahrung auf diese Form des Schwefels. Konnte man früher bei dem Gesamtstickstoff eine gewisse Zunahme beobachten, so sieht man jetzt eine bedeutende relative und absolute Abnahme in der Ausscheidung. Anstatt eines durchschnittlichen Wertes von 40—50% fällt das Verhältnis plötzlich auf 35% und endlich auf 23%; ein großer Teil davon wird zur Bildung von neutralen Schwefelverbindungen verwendet. Der Teil, der von dem Äthersulfat-Schwefel eingenommen wird, soll in einem der folgenden Abschnitte behandelt werden. In dieser Hinsicht zeigen unsere Ergebnisse sogar viel klarer als die von Folin selbst die Richtigkeit seiner Ansichten, betreffs des Einflusses der niedrigen Eiweißnahrung auf die Schwefelverteilung. Obgleich tatsächlich die wahre Schwefelmenge in der Nahrung während der Calorientage größer als an den vorhergehenden Tagen war, so war die Quantität im Harn selbst am ersten Tage vermindert und fiel am zweiten Tage auf 50% von derjenigen, die am ersten Tage ausgeschieden war. Es ist zweifelhaft, ob je ein solch niedriger Wert für oxydierten Schwefel beobachtet worden ist.

Bei Zufuhr von sehr viel Eiweiß steigt, wie man erwarten konnte, der relative Wert der Gesamtsulfate auf 78% und behält für einige Tage anscheinend ein hohes Niveau. Auf jeden Fall war am letzten der drei Tage der Hungerperiode das Verhältnis hoch. Da dieser letzte Wert aus fast übereinstimmenden Kontroll-

analysen erhalten war, können wir für ihn einstehen, aber keine Erklärung dafür geben. Beim Hund Nr. 391 ist zu beachten, daß ein ähnliches Steigen in dem Verhältnis des Gesamtsulfat-Schwefels statthat. In diesem Falle beträgt der Wert nur 68,7% gegen den sehr hohen Wert von 81,0% zuvor.

Alkalisulfat-Schwefel.

Beim Hund Nr. 391 bleiben während der zwei Hungertage, an denen Analysen gemacht wurden, die Alkali-Sulfatwerte auf einem verhältnismäßig hohen Stand. Mit der Zufuhr von Fett und Kohlehydraten sinken die Verhältnisse, indem sie im ganzen mit der Kurve der Gesamtschwefelsäureausscheidung zusammenfallen. Analog den Veränderungen bei den Äthersulfaten gehen diese beiden Verhältniszahlen nicht immer parallel, und man findet eines Tages (am 25.), daß die Alkalisulfate niedrig waren, während die Gesamtschwefelsäure hoch war. Man bemerkt hier eine beständige Abnahme in der Menge des ausgeschiedenen Alkalisulfat-Schwefels, die ihren niedrigsten Wert am letzten Tag der Stärke-Rahmnahrung erreichte.

Beim Hund Nr. 399 bemerkt man dieselbe Wirkung wie beim vorhergehenden Tier. Der schützende Einfluß der doppelten Calorienmenge zeigt sich ebenso klar bei dieser Schwefelform wie für die der Gesamtschwefelsäure.

Äthersulfat-Schwefel.

Dieser Teil des Schwefels ist dadurch bemerkenswert, daß er trotz vielfacher Variation der Ernährungsbedingungen fast gar keine Schwankung zeigt. Er scheint fast unabhängig von der Quantität und Qualität der zugeführten Nahrung zu sein. Die geringen eintretenden Schwankungen dürften in einer Abnahme der Äthersulfate bei der Stärke-Fettnahrung bestehen. Ganz bemerkenswert ist die Tatsache, daß die Zufuhr von 1,27 g Schwefel praktisch keinen Einfluß auf die Ausscheidung der Ätherschwefelsäure hat. Während diese Resultate am Hund Nr. 391 zutage traten, ist diese Unabhängigkeit von der Nahrung beim Hund Nr. 399 am markantesten. Hier ist der Wert an dem Tage, an dem die große Menge Casein gegeben wurde, niedriger als an vielen Tagen, wo Stärke und Fett zur Nahrung dienten.

Wenn wir die Ätherschwefelsäure als ein teilweises Produkt des Zellenstoffwechsels ansehen, bieten die früheren Ergebnisse

von Embden und Glaeßner (58) uns einen Gesichtspunkt. Diese Forscher fanden, daß bei Durchspülung der Leber mit Phenol Ätherschwefelsäuren entstehen, wie aus Cystin selbst. Es ist sehr wohl möglich, daß eine kleine und vielleicht konstante Phenolmenge durch irgend einen besonderen Vorgang im intermediären Stoffwechsel abgespalten wird, und daß diese Phenolkörper zur Bildung jener kleinen Mengen von Äthersulfaten Anlaß geben, die man auch bei Ausschluß von Fäulnisvorgängen im Darme findet. Dies hat nichts mit der Tatsache zu tun, daß das Cystin selbst irgend einen unbekannten Typus von Ätherschwefelsäureverbindungen bilden kann.

Wenn man die bezüglich der Ätherschwefelsäuren erhaltenen Resultate mit den Ergebnissen der Indicanprobe zusammen betrachtet, so bemerkt man, wie schon oftmals zuvor ausgesprochen ist, daß die Ausscheidung von Ätherschwefelsäure in keiner Beziehung zu der Menge des Indicans steht. An Tagen, an denen die Indoxylmenge groß ist, können die Äthersulfate gering sein. Es ist sehr wahrscheinlich, daß der Umfang der Darmfäulnis bei diesen Hunden klein war. Gleichzeitig zeigt die Ausscheidung der Ätherschwefelsäure eine bemerkenswerte Beständigkeit und Unabhängigkeit von der Proteinmenge der Nahrung.

Sicher ist, daß, wenn man das Indican als Zeichen von Darmfäulnis betrachtet — und tatsächlich stimmen alle Autoren in diesem Punkte überein —, die Ätherschwefelsäure nicht dieselbe Bedeutung im normalen Stoffwechsel haben kann, sondern wie Folin meint, teilweise das Produkt eines speziellen Stoffwechselvorganges sein muß, unabhängig von den Fäulnisprozessen im Darmkanal. Diese Ansicht, die im Gegensatz zu der vieler Forscher, z. B. auch zu der Gerhardts (59), steht, hat in vielen Punkten wichtige Stützen. Der Einfluß von Kohlehydratnahrung, welchen Rovighi (60) auf die Bildung von Milchsäure im Darm zurückführt, und die Hemmungswirkung dieser Säure auf das Bakterienwachstum kann zum Teil wenigstens einer anderen Ursache zugeschrieben werden. Man sieht aus den Ergebnissen der Stickstoffverteilung den sehr großen Einfluß der Kohlehydratnahrung auf die Verteilung des Stickstoffs, einen Einfluß, den man am besten einer Veränderung in dem Typus des Stoffwechsels zuschreibt.

Es muß hervorgehoben werden, daß Folin bei einer Stärke-Fettkost das Indican fast ausnahmslos aus dem Harne ver-

schwinden sah. Dies ist sicherlich beim Hund nicht der Fall, denn an den Tagen, an denen Stärke und Rahm gegeben wurden, war eine Indicanreaktion vorhanden. Einer der Unterschiede zwischen dem Hunde und dem Menschen ist die Ausscheidung von Kynurensäure bei ersterem. Nach Ellingers (61) interessanten Angaben ist diese Oxychinolincarbonsäure ein Abkömmling des vom Indol derivierenden Tryptophans.

Es ist wohl möglich, daß beim Hund Indoxyl ein normales Produkt des Eiweißstoffwechsels ist, ganz unabhängig von der Darmfäulnis. Die allgemeine Meinung ist gegen die Anschauung, daß auch nur ein Teil der Indicanmenge im Harn des Menschen aus Vorgängen des Gewebestoffwechsels stammt, und auch unsere eigenen Ergebnisse führten uns bei der Prüfung sehr vieler pathologischer Harne zu der Ansicht, daß ohne Darmfäulnis keine Indicanbildung beim Menschen eintreten kann.

Wir können deshalb annehmen, daß derselbe Einfluß auf die Verteilung des Schwefels wirkt, und daß der absolute erhaltene Wert für die Menge der Ätherschwefelsäuren die Resultante zweier Vorgänge ist. Erstens: der Darmfäulnis und zweitens: der gewisser, noch wenig bekannter, aber sicher von der Darmfäulnis unabhängiger Stoffwechselvorgänge.

Neutraler Schwefel.

Der neutrale Schwefel hat jüngst infolge klinischer Versuche, diese Form des Harnschwefels diagnostischen Zwecken nutzbar zu machen, erhebliche Beachtung gefunden. Ganz wie bei der Ätherschwefelsäure ist dem Verhältnis dieser Fraktion zum Gesamtschwefel mehr Aufmerksamkeit als ihrer absoluten Menge gewidmet. Es ist gesagt worden, daß die Zunahme des Verhältnisses N.S : T.S auf eine Abnahme der oxydierenden Fähigkeit des Organismus hinweise.

Folin hat andererseits die verhältnismäßige Beständigkeit der Ausscheidung während extremer Nahrungsveränderungen gezeigt, derart, daß bei eiweißarmer Nahrung der relative Wert zunimmt.

Hieraus schließt Folin, daß der neutrale Schwefel eng mit den sogenannten endogenen Stoffwechselvorgängen zusammenhängt. Da die Erforschung dieses Stoffwechseltypus außerordentlich schwierig ist, ist es wichtig, seine Ergebnisse zu kontrollieren,

denn man kann annehmen, wie wir an einer früheren Stelle dieser Arbeit getan haben, daß die fundamentalen Stoffwechselvorgänge diejenigen sind, die bei jeder Tierart wiederzufinden sind, während sich in den mehr oder weniger wichtigen bei der Prüfung der verschiedenen Arten Unterschiede zeigen werden.

Wie man aus der Tabelle ersehen wird, ist die Unabhängigkeit dieser Schwefelform von der Schwefel-Stickstoffzufuhr höchst bemerkenswert.

Wenn man die Ausscheidung vom Standpunkt der absoluten Zahl aus betrachtet, sind die Veränderungen von Tag zu Tag recht bedeutend, aber diese Schwankung hat wenig mit der zugeführten Schwefel-Stickstoffmenge zu tun.

Folin war in seiner Mitteilung über Eiweißstoffwechsel bei den Betrachtungen über die Bedeutung des neutralen Schwefels geneigt, einen Teil der gefundenen Veränderungen Irrtümern in der analytischen Technik zuzuschreiben, die er seitdem durch die ausgezeichnete und ausführlich in seiner Arbeit über Schwefelbestimmung angegebene Methodik beseitigt hat.

Indem wir unsere Resultate mitteilen, wiederholen wir, daß sie nach seinen letzten Methoden mit ausreichender Genauigkeit ausgeführt worden sind.

Die Veränderungen bleiben bestehen. Es muß indessen hervorgehoben werden, daß beim Arbeiten mit Hundeharn die totale Menge des Bariumsulfats dem Gewichte nach klein ist, und daß kleine Unterschiede im Gewicht sich in den Tabellen als erheblich darstellen. Nach den Ergebnissen der genau übereinstimmenden Kontrollanalysen können wir nur glauben, daß der Unterschied, den Folin in der absoluten Schwefelmenge im menschlichen Harn beobachtet hat, wirklich existiert. Diese Unterschiede stoßen jedoch seine Angaben nicht um, daß die von einem Versuchsindividuum ausgeschiedene absolute Menge des neutralen Schwefels bis zu einem hohen Grade von der zugeführten Schwefel- und Stickstoffmenge unabhängig ist.

Wenn man die Natur der Substanzen in Betracht zieht, die in die neutrale Schwefel- und unbestimmte Stickstofffraktion eingehen (62), muß man zugeben, daß eine absolute Konstanz kaum zu erwarten ist, jedenfalls nicht in dem Umfange, wie man sie für die Ausscheidung einer Substanz von fester Zusammensetzung, wie z. B. Kreatinin, findet. Wie wir schon vorher be-

merkt haben, sind die Substanzen, die diesen Anteil der Stickstoff- und Schwefelausscheidung ausmachen, wahrscheinlich in ihrer Zusammensetzung außerordentlich veränderlich.

Als Produkte des endogenen Stoffwechsels stammen sie zweifellos aus sehr verschiedenen Teilen des Organismus und stellen die wertlosen Produkte des Zellenstoffwechsels sehr verschiedener Regionen dar.

Aus diesem Grunde zeigen sie trotz ihrer Unabhängigkeit von einem verhältnismäßig großen Teil der Ausscheidungen nicht dieselbe Beständigkeit wie die Kreatininausscheidung; sie ist wahrscheinlich der Ausdruck eines ganz bestimmten Stoffwechselvorganges, den man als eine durch den ganzen Organismus verlaufende chemische Reaktion auffassen kann.

In dieser Reihe von Versuchen bleibt noch die Resorption von Eiweiß und Fett zu besprechen und einige unwichtigere Punkte, die mit der Zusammensetzung des Harns in Verbindung stehen.

Während des Hungerns und der Fett- Kohlehydratperiode war die Stickstoffmenge in den Faeces klein und wahrscheinlich allein auf Epithelialdetritus und Fäulnisprodukte im Darmlumen zurückzuführen.

Die Fettresorption war auch sehr gut, selbst in dem zweiten Versuch, in dem 74 g Fett in 24 Stunden zugeführt waren. Von den Fettmengen, die während des zweiten Experiments dem Hund Nr. 399 gegeben waren, erschien in den Faeces eine Quantität, die einer Resorption von 97,5% entsprach.

Reaktion des Harns.

Wie man aus den Tabellen ersehen wird, war die Reaktion des Harns in einigen Fällen alkalisch, und gerade an diesen Tagen war die relative Menge Ammoniakstickstoff hoch. Es erscheint uns jedoch sehr zweifelhaft, daß dies von einer Zersetzung des Harns herrührt. Die Tatsachen, die gegen eine Zersetzung sprechen, sind folgende: Die außerordentliche Sorgfalt beim Sammeln des Harns, die alkalische Reaktion des aus der Blase kommenden Urins und das Ausbleiben weiterer Zersetzung beim Stehen, worauf besonders geprüft wurde.

Ferner würde Harn bei einer etwa bestehenden Cystitis, an die man wegen der alkalischen Reaktion hätte denken können, dauernd alkalisch reagiert haben, was nicht der Fall war.

Indican.

Die Menge vorhandenen Indicans nahm bei der Kohlehydratfettnahrung deutlich ab, aber nicht so ausgesprochen, wie es beim Menschen beobachtet ist. Wie schon erwähnt, ist es denkbar, daß beim Hund ein gewisser Anteil dieser Substanz ein intermediäres Stoffwechselprodukt darstellt, obgleich dem bis zu einem gewissen Grad der Umstand widerspricht, daß an bestimmten Tagen diese Substanz im Harne nicht vorhanden ist.

Schlußfolgerungen.

1. Bei einer stickstofffreien Nahrung von reichlichem Calorienwert sind alle die Stickstoffkomponenten ein Verhältnis zum Gesamtstickstoff relativ vermehrt bis auf den Harnstoff, der relativ abnimmt.

2. Wenn man die stickstofffreie Nahrung verdoppelt, so daß der Calorienwert 180 Calorien pro Kilogramm beträgt, bringt man damit keine große Veränderung im gegenseitigen Verhältnis der einzelnen Stickstoffbestandteile hervor gegen die Verteilung, welche bei der ursprünglich angewandten Nahrung bestand.

3. Eine Caseinzulage ändert sofort alle relativen Werte der Stickstofformen im Harn. In den absoluten Mengen bleibt allein Kreatinin unverändert. Während die absolute Ammoniakmenge bei Eiweißkost wächst, nimmt das Verhältnis zum totalen Stickstoff in ausgesprochener Weise ab.

4. Die Schwefelverteilung ist bei einer Kohlehydratfettnahrung stark verschieden von der im Hunger und der bei Eiweißkost. Sowohl der Gesamt- wie der Alkalisulfatschwefel nehmen relativ ab, die Ätherschwefelsäure nimmt zu.

5. Sowohl die Fraktion des Reststickstoffs wie die des neutralen Schwefels nimmt bei der Darreichung von Eiweiß dem absoluten Werte nach zu, aber die relativen Mengen nehmen im Verhältnis zum Gesamtstickstoff und zum Gesamtschwefel dementsprechend ab.

6. Die Ätherschwefelsäuren stehen in keiner bestimmten Beziehung zum Indican.

7. Der Eiweiß- und der Schwefelstoffwechsel ist beim Hund, soweit diese Experimente in Betracht kommen, in quantitativer Hinsicht derselbe wie beim Menschen.

Tabelle I.

Datum. Gewicht	Volumen Spezifisches Gewicht 10	Gleichgewicht. Calorien	Gesamtstickstoff in der Nahrung. Gesamtstickstoff im Harn	Gesamtharnstoff. Stickstoff. Gesamtharnstoffstickstoff: Gesamtstickstoff	Ammoniakstickstoff. Ammoniakstickstoff: Gesamtstickstoff	Harnstoffstickstoff. Harnstoffstickstoff: Gesamtstickstoff	Kreatininstickstoff. Kreatininstickstoff: Gesamtstickstoff	Kreatinstickstoff. Kreatinstickstoff: Gesamtstickstoff
23. 5.	45	—1,42	0,000	1,303	0,145	1,158	0,053	0,017
7380	34	0	1,425	91,4	10,2	81,2	3,7	1,2
24. 5.	83	—1,72	0,000	1,478	0,300	1,178	0,053	0,037
7200	33	0	1,723	85,8	17,4	68,4	3,0	2,1
25. 5.	110	—0,89	0,204	0,875	0,148	0,727	0,060	0,008
7140	29	570	1,098	79,7	13,5	66,2	5,4	0,7
26. 5.	125	—0,54	0,204	0,613	0,165	0,448	0,053	0,000
7140	19	570	0,745	82,3	22,2	60,1	7,1	0,0
27. 5.	90	—0,61	0,204	0,575	0,203	0,372	0,058	0,000
7140	19	570	0,810	71,0	25,0	46,0	7,1	0,0
28. 5.	195	—0,62	0,204	0,672	0,187	0,486	0,065	0,000
7200	11	570	0,828	81,3	23,6	57,7	7,8	0,0
29. 4.	205	—0,48	0,204	0,550	0,075	0,475	0,050	0,005
7160	10	570	0,684	80,9	11,0	69,9	7,4	0,7
30. 5.	145	—0,50	0,204	0,568	0,050	0,518	0,050	0,015
7120	16	570	0,700	81,1	7,1	74,0	7,1	2,2
31. 5.	148	—0,59	0,204	0,648	0,118	0,530	0,065	0,015
7120	13	570	0,798	81,2	14,8	66,4	8,1	1,9
1. 6.	225	+8,48	15,730	6,830	0,255	6,575	0,060	0,005
7140	36	394	7,255	94,1	3,5	90,6	0,8	0,1
2. 6.	235	—3,80	0,000	3,630	0,355	3,275	0,055	0,005
7120	18	0	3,800	95,5	9,3	86,2	1,6	0,2
3. 6.	100	—1,54	0,000	1,353	0,128	1,235	0,065	0,000
7120	24	0	1,548	87,4	8,3	79,1	4,2	0,0
4. 6.	75	—1,26	0,000	1,678	0,248	0,830	0,058	0,005
6820	24	0	1,265	85,2	19,6	65,6	4,5	0,4
5. 6.	100	—1,60	0,000	1,428	0,223	1,205	0,060	0,005
6720	25	0	1,603	89,1	13,9	75,2	3,7	0,3
6. 6.								
6580								

Hund Nr. 391.

Reststickstoff. Reststickstoff: Gesamtstickstoff	Fett in der Nahrung. Fett in den Faeces	Stickstoff in den Faeces. Schwefel in den Faeces	Gesamtschwefel im Harn. Gesamtschwefel im Harn: Gesamtstickstoff im Harn	Gesamtschwefelsäure-Schwefel im Harn. Gesamtschwefelsäure-Schwefel: Gesamtschwefel	Alkalisulfat-Schwefel im Harn. Alkalisulfat-Schwefel: Gesamtschwefel	Ätherschwefelsäure im Harn. Ätherschwefelsäure-Schwefel: Gesamtschwefel	Neutraler Schwefel im Harn. Neutraler Schwefel: Gesamtschwefel	Reaktion. Albumin	Indican
0,052 3,7	0,000 0,00	0,000 0,000	0,090 6,3	0,066 73,3	0,058 64,5	0,008 8,8	0,024 26,7	alk +	++++
0,155 9,1	0,000 0,00	0,000 0,000	0,109 6,3	0,080 73,4	0,070 64,3	0,010 9,1	0,029 26,6	alk +	++++
0,155 14,2	32,70 0,00	0,000 0,000	0,096 8,7	0,059 61,4	0,049 51,0	0,010 10,4	0,037 38,6	alk +++	+
0,079 10,6	32,70 0,43	0,144 unbest.	0,042 5,6	0,012 28,6	0,004 9,5	0,009 19,1	0,030 71,4	alk +++	0
0,177 21,9	32,70 0,11	0,034 0,013	0,051 6,3	0,008 15,7	0,003 5,9	0,005 9,8	0,043 84,3	alk +	0
0,090 10,9	32,70 0,00	0,000 0,000	0,053 6,4	0,013 24,5	0,006 11,3	0,007 13,2	0,040 75,5	alk 0	0
0,075 11,0	32,70 unbest.	0,024 0,011	0,056 8,2	0,015 26,7	0,010 17,8	0,005 8,9	0,041 73,3	alk +	+
0,067 9,6	32,70 0,00	0,000 0,000	0,044 6,2	0,010 22,8	0,008 18,3	0,002 4,5	0,034 77,2	sauer +	0
0,070 8,8	32,70 0,00	0,000 0,000	0,048 6,0	0,011 22,9	0,005 10,4	0,006 12,5	0,037 77,1	sauer +	0
0,360 5,0	1,01 0,17	0,269 0,081	0,345 4,7	0,300 87,0	0,290 84,1	0,010 2,9	0,045 13,0	sauer +	++
0,110 2,7	0,00 0,14	0,381 0,056	0,170 4,4	0,116 68,0	0,104 61,0	0,012 7,0	0,054 32,0	sauer +	+
0,130 8,4	0,00 0,00	0,000 0,000	0,109 7,0	0,047 43,0	0,042 38,6	0,005 4,4	0,062 57,0	alk +	++
0,124 9,9	0,00 2,02	0,731 0,158	0,079 6,2	0,038 48,1	0,035 44,4	0,003 3,7	0,041 51,9	alk +++	0
0,110 6,9	0,00 0,00	0,000 0,000	0,092 6,0	0,063 68,5	0,062 67,4	0,001 1,1	0,029 31,5	alk +	0
	0,31	0,230 0,044							

Tabelle II.

Datum. Gewicht	Volumen. Spezifisches Gewicht 10	Gleichgewicht. Calorien	Gesamtstickstoff in der Nahrung. Gesamtstickstoff im Harn	Gesamtharnstoff. Stickstoff. Gesamtharnstoffstickstoff: Gesamtstickstoff	Ammoniakstickstoff. Ammoniakstickstoff: Gesamtstickstoff	Harnstoffstickstoff. Harnstoffstickstoff: Gesamtstickstoff	Kreatininstickstoff. Kreatininstickstoff: Gesamtstickstoff.	Kreatinstickstoff. Kreatinstickstoff: Gesamtstickstoff
15. 5. 8160	153 22	—1,25 640	0,323 1,573	1,488 94,6	0,440 28,0	1,048 66,6	0,063 4,0	0,000 0,0
16. 5. 8160	230 14	—0,92 640	0,323 1,240	1,038 83,7	0,315 25,4	0,723 58,3	0,048 3,8	0,005 0.4
17. 5. 8100	250 12	—1,08 640	0,323 1,408	1,163 82,6	0,115 8,2	1,048 74,4	0,060 4,3	0,005 0,4
18. 5. 8080	310 11	—0,98 640	0,323 1,300	1,030 79,3	0,085 6,6	0,945 72,7	0,050 3,9	0,000 0,0
19. 5. 7920	210 14	—0,96 630	0,323 1,283	1,113 86,7	0,097 7,6	1,016 79,1	0,053 4,1	0,000 0,0
20. 5. 7840	288 12	—0,89 625	0,323 1,215	0,945 77,8	0,090 7,8	0,850 70,0	0,050 4,1	0,000 0,0
21. 5. 7840	415 09	—0,77 625	0,323 1,195	0,915 76,6	0,100 8,4	0,815 68,2	0,060 5,0	0,000 0,0
22. 5. 7640	360 12	—0,50 1250	0,646 1,140	0,950 83,3	0,105 9,2	0,845 71,4	0,050 4,4	0,000 0,0
23. 5. 7700	517 09	—0,32 1250	0,646 0,966	0,840 87,0	0,168 17,4	0,672 69,6	0,060 6,2	0,000 0,0
24. 5. 7720	305 26	+9,93 394	15,730 5,805	5,600 96,5	0,250 4,3	5,350 92,2	0,055 1,0	0,000 0,0
25. 5. 7660	585 08	—3,41 0	0,000 3,414	3,174 93,0	0,300 8,8	2,874 84,2	0,060 1,8	0,000 0,0
26. 5. 7820	305 11	—1,78 0	0,000 1,785	1,495 83,8	0,155 8,7	1,340 75,1	0,050 2,8	0,010 0,6
27. 5. 7700	205 16	—2,02 0	0,000 2,203	1,940 88,1	0,170 7,7	1,770 80,4	0,058 2,6	0,018 0,8
28. 5.								

Hund Nr. 399.

Reststickstoff. / Reststickstoff: Gesamtstickstoff	Fett in der Nahrung. / Fett in den Faeces	Stickstoff in den Faeces. / Schwefel in den Faeces	Gesamtschwefel im Harn. / Gesamtschwefel im Harn: Gesamtstickstoff im Harn	Gesamtschwefelsäure-Schwefel im Harn. / Gesamtschwefelsäure-Schwefel: Gesamtschwefel	Alkalisulfat-Schwefel im Harn. / Alkalisulfat-Schwefel: Gesamtschwefel	Ätherschwefelsäure im Harn. / Ätherschwefelsäure-Schwefel: Gesamtschwefel	Neutraler Schwefel im Harn. / Neutraler Schwefel: Gesamtschwefel	Reaktion. / Albumin	Indican
0,022	37,08	0,000	0,158	0,120	0,096	0,024	0,038	alk	++++
1,4	0,00	0,0	10,0	75,9	60,7	15,2	24,1	+	
0,149	37,08	0,000	0,108	0,071	0,062	0,009	0,037	neut	+
12,1	0,00	0,0	8,7	65,8	57,5	8,3	34,2	++	
0,180	37,08	0,538	0,105	0,069	0,057	0,012	0,036	sauer	++++
12,7	1,36	0,110	7,1	65,8	54,3	11,5	34,2	++	
0,220	37,08	0,301	0,100	0,047	0,026	0,021	0,053	sauer	+++
16,8	0,97	0,112	7,7	47,0	26,0	21,0	53,0	+	
0,117	37,08	0,000	0,107	0,071	0,056	0,015	0,036	sauer	++++
9,2	0,00	0,0	8,3	66,4	52,4	14,0	33,6	+	
0,220	37,08	0,336	0,107	0,064	0,049	0,015	0,043	sauer	+++
18,1	0,84	0,076	8,8	59,9	45,9	14,0	40,1	+	
0,220	37,08	0,184	0,104	0,043	0,039	0,004	0,061	sauer	++
18,4	0,51	0,063	8,7	41,3	37,5	3,8	58,7	+	
0,140	74,16	0,129	0,096	0,034	0,031	0,003	0,062	sauer	0
12,3	0,39	0,041	8,4	35,5	32,3	3,2	64,5	+	
0,066	74,16	0,284	0,074	0,017	0,016	0,001	0,057	sauer	0
6,8	0,98	0,061	7,6	23,0	21,6	1,4	77,0	+	
0,150	1,01	0,554	0,282	0,222	0,213	0,009	0,060	sauer	+
2,5	3,41	0,104	4,8	78,7	75,5	3,2	21,3	+	
0,180	0,00	0,000	0,176	0,127	0,125	0,002	0,049	neut	++
5,2	0,00	0,0	5,1	72,2	71,1	1,1	27,8	0	
0,230	0,00	0,000	0,148	0,067	0,058	0,009	0,081	sauer	0
12,8	0,00	0,0	8,3	45,3	39,2	6,1	54,7	0	
0,187	0,00	0,000	0,156	0,128	0,114	0,014	0,028	sauer	++++
8,5	0,00	0,0	7,6	81,9	73,0	8,9	18,1	0	
		0,441							
	0,66	0,073							

Literatur.

1. **Stadthagen**, Virchows Archiv **109**, 418, 1887.
2. **Waldvogel**, Die Acetonkörper.
3. **Baer**, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **51**, 271, 1904; **Baer und Blum**, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **3**, 530, 1906; **Brugsch**, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **1**, 423, 1904.
4. **Baer**, l. c.
5. **Jones und Partridge**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **42**, 343, 1904; **Schittenhelm**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **42**, 251, 1904; **43**, 228, 1904; **45**, 152, 1905; **Jones**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **45**, 85, 1905.
6. Siehe die vorhergehenden Zitate.
7. **Falta**, Deutsches Arch. f. klin. Med. **86**, 539, 1906.
8. **Schittenhelm und Katzenstein**, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **2**, 560, 1906.
9. **Marriott and Wolf**, Proceeding of the Society for experimental Biology and Medicine, New York 1906.
10. **Folin**, American Journal of Physiology **13**, 45, 1904; ibid. **13**, 66, 1904; ibid. **13**, 116, 1904.
11. **Samuely**, Deutsches Arch. f. klin. Med. **89**, 220, 1906.
12. **Zweifel**, Arch. f. Gynäkol. **72**, 1, 1904; **76**, 537, 1905.
13. **Siven**, Skandinav. Arch. f. Physiol. **11**, 308, 1901
14. **Landergren**, Skandinav. Arch. f. Physiol. **14**, 125, 1903.
15. **Schittenhelm und Katzenstein**, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **2**, 542, 1906.
16. **Haskins and Macleod**, Journal of Biological Chemistry **2**, 231, 1906
17. **Burian und Schur**, Pflügers Arch. f. Physiol. **80**. 241, 1900; **87**, 239, 1901; **94**, 273, 1903.
18. **Leathes**, Journal of Physiology **35**, 135, 1906.
19. **Zweifel**, l. c.
20. **Lang**, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **5**, 321, 1904.
21. **Magnus-Levy**, Handb. d. Pathol. d. Stoffwechsels von C. v. Noorden **1**, 105, 1906.
22. **Magnus-Levy**, Zeitschr. f. klin. Med. **60**, 177, 1906.
23. **Weber**, Ergebnisse der Physiologie **3**, I, 285, 1904.
24. **Goldmann**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **9**, 263, 1885.
25. **E. Salkowski**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **4**, 294, 1880.
26. **Rubner**, Arch. f. Hygiene **21**, 370, 1885.
27. **Brugsch**, l. c.
28. **Bönninger und Mohr**, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **3**, 663, 1906.
29. **Schulz**, Pflügers Arch. f. Physiol. **114**, 419, 1906; siehe auch **Zuntz**, Pflügers Arch. f. Physiol. **49**, 438.
30. **Kolpachka**, Phiziologicheskii Sbornik, Charkov **1**, 56, zit. nach United States Department of Agriculture, Bulletin No. 45, 321. 1898.
31. **Bischoff**, Zeitschr. f. Biol. **3**, 310.

32. **J. Munk**, Virchows Archiv **132**.
33. **Bischoff und Voit**, Die Ernährung des Fleischfressers
34. **Falck**, Arch. f. pathol. Anat. **1875**, 58.
35. **Folin**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **37**, 161, 1903.
36. **Folin**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **36**, 333, 1902; **37**, 548, 1903.
37. **Folin**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **41**, 223, 1904.
38. **Folin**, Journal of Biological Chemistry **1**, 131, 1906.
39. **Chittenden**, Physiological Economy in Nutrition, New York **1905**, 202.
40. **Johannssen and Hellgren**, Upsala Läkareforëning Forhandlingar **11**, 1906. Festschrift für Olof Hammarsten.
41. **Falta**, l. c.
42. **Ewing und Wolf**, American Journal of the Medical Sciences **131**, 751, 1906. American Journal of Obstetrics **1907**.
43. **Paton**, Journal of Physiology **33**, 11, 1906.
44. **Brugsch**, l. c.
45. **Macleod und Haskins**, l. c.
46. **Folin**, Procedings of the American Physiological Society **1906**.
47. **Folin**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **41**, 239, 1904.
48. **von Hoogenhuyze und Verploegh**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **46**, 415, 1906; **Shaffer**, Proceedings of the American Physiological Society **1906**.
49. **Koch**, American Journal of Physiology **15**, 15, 1905.
50. **Grüber**, Zeitschr. f. Biol. **42**, 406, 1901.
51. **Ewing und Wolf**, l. c.
52. **Clare**, Inaug.-Diss., Dorpat 1854.
53. **Kunkel**, Pflügers Arch. f. Physiol. **14**, 344, 1877.
54. **J. Munk** l. c.
55. **E. und O. Freund**, Wiener klin. Rundschau **1901**, 69 und 91.
56. **J. Munk**, l. c.
57. **Hämäläinen und Helme**, Skandinav. Arch. f. Physiol. **19**, 1907.
58. **Embden und Glaeßner**, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **1**, 310, 1901.
59. **Gerhardt**, Ergebnisse der Physiologie **3**, 1, 1904.
60. **Rovighi**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **16**, 20, 1892.
61. **Ellinger**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **43**, 325, 1904.
62. **Bondzynski und Gottlieb**, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **35**, 2959, 1902; **Neuberg und Großer**, Centralbl. f. Physiol. **19**, 316, 1905; **Neuberg und Manasse**, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **38**, 2362, 1905; **Bondzynski, Dombrowski und Panek**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **46**, 83, 1905; **Abderhalden und Pregl**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **46**, 19, 1905; **Hari**, Zeitschr. f. physiol. Chemie **46**, 1, 1905.

Zur Chemie des Chlorophylls.

Von

L. Marchlewski.

(Eingegangen am 20. Juli 1907.)

„Das bisherige Objekt der Chemie des Chlorophylls war ein Mythus", dieser Passus bildet neben noch anderen, nicht minder interessanten, das Vorspiel zu einer Abhandlung von Herrn Tswett [1]) über Chlorophyll, dessen bisherige Leistungen auf diesem Gebiet trefflich H. Kayser [2]) in seinem Werke über Spektroskopie charakterisiert hat, indem er schrieb: „Dann scheint Tswett lauter neue Namen einführen zu wollen" [3]). Ein anderer Passus ist ebenfalls sehr belehrend: „die regelrechte chemische Untersuchung einer Substanz pflegt mit der Darstellung dieser letzten in reinem Zustande anzufangen". Daß diese Wahrheit von einem Gelehrten stammen muß, der Chlorophyll tatsächlich krystallisiert erhalten haben will, aber seit diesem vor Jahren gemachten Kunststück über krystallisiertes Chlorophyll weiter nichts publizierte, ist selbstverständlich. Dagegen ist die Behauptung, jetzt noch wäre allgemein die Meinung vorherrschend, daß Blattgrün nur aus einem grünen und einem oder einigen gelben Komponenten zusammengesetzt ist, leider unklar und direkt „exquisit" falsch. Hierüber viele Worte zu verlieren, hieße die Bedeutung unserer Spezialzeitschriften auf Null zu schätzen.

Daß derartige imposante Redensarten einen recht einschüchtern müssen, liegt auf der Hand, und daß ich demnach Herrn Tswetts Abhandlung und seine Einwände gegen meine und

---

[1]) Diese Zeitschr. 5, 6, 1907.

[2]) Band IV, S. 48.

[3]) Daß in dieser Richtung Herr Tswett noch Außerordentliches leisten kann, beweist die genannte Arbeit von neuem.

meiner Mitarbeiter Resultate mit Stillschweigen übergehe, ist selbstverständlich, um so mehr als ich das Nötige bereits anderen Ortes[1]) gesagt habe und die Versuche mit der „chromatographischen Methode", die bald ihren Abschluß finden werden, mir Veranlassung geben werden, noch einmal mich über dieses Thema zu äußern.

Gegenwärtig erlaube ich mir nur zwei Bemerkungen: erstens hat Tswett Phylloxanthin niemals unter den Händen gehabt, denn Phylloxanthin hat nicht das Spektrum, welches er für sein Chlorophyllan β angibt[2]), es zeigt keine sechs Bänder zwischen B u. F. Wenn er also behauptet, die Unüberführbarkeit des Phylloxanthins in Phyllocyanin durch Säuren in der Kälte selbst bewiesen zu haben, so begeht er einen Irrtum. Und hieraus folgt meine zweite Bemerkung: wie es in der wissenschaftlichen Literatur unstatthaft ist, gegen einen Autor schwere Verdächtigungen zu insinuieren[3]), weil er das Journal, in welchem die Publikation des von ihm übrigens in loyalster Weise zitierten Verfassers (Sorbys) erschienen war, zufälligerweise nicht angab; ebenso unstatthaft ist es zu behaupten, Arbeiten anderer, die am 22. Februar 1907 in Druckschriften ausgegeben wurden, erst nach dem Niederschreiben seiner eigenen am 10. Juni 1907 zu Gesicht bekommen zu haben — auch wenn es den Tatsachen entspricht. In solchen Fällen wird das Niedergeschriebene von neuem geschrieben.

Krakau, den 17. Juli 1907.

---

[1]) Ber. d. deutsch. botan. Ges. **24**, 534; **25**, 225.

[2]) Nach T. hat Chlorophyllan β dasselbe Spektrum wie Phylloxanthin, mit anderen Worten: in spektroskopischer Hinsicht wird Chlorophyllan β durch starke Säuren nicht verändert.

[3]) Tswett, Ber. d. deutsch. botan. Ges. **1906**, 389; **1907**, 71.

Bemerkung zur Theorie der Molekularschwingungen.

Von

G. Heller.

(Eingegangen am 22. Juli 1907.)

Meine Anschauungen über Molekularschwingungen[1]) sind von Herrn W o h l [2]) nicht richtig verstanden worden. Er ist der Ansicht, daß die bei einem chemischen Vorgange auftretende Wärme veränderte Reaktionen hervorbringen könne, denn er sagt: „Da bei langsam verlaufenden Vorgängen nicht alle Molekeln zugleich reagieren können, und da die Ableitung der Reaktionsenergie, d. i. die Verteilung der Wärmetönung, die an den reagierenden Molekeln auftritt, auf das ganze Medium Zeit erfordert, so ist unzweifelhaft, daß die reagierenden Moleküle und ihre unmittelbaren Umsetzungsprodukte für sehr kurze Zeit, nämlich bis die Fortleitung der Reaktionswärme erfolgt ist, in einem Zustande sind, der einer höheren Temperatur entspricht, als sie sonst Molekeln bei der vom Thermometer angezeigten Temperatur erreichen[2]). Er fügt dann unter Erwähnung meiner Anschauungen hinzu, daß die einfache Beziehung der Reaktionsenergie zur Temperatur, die weitere besondere Voraussetzungen unnötig macht, bisher noch nicht in Betracht gezogen zu sein scheint.

Die Wo h l sche Überlegung ist meines Erachtens aber nicht ganz zutreffend. Die Wirkung der Wärme bei der Reaktion findet selbstverständlich statt, aber sie kommt erst in zweiter Linie in Betracht. Der primäre Vorgang ist offenbar folgender. Bei einem exothermischen Prozeß wird bekanntlich in die neu entstehende Verbindung nicht dieselbe Menge Energie mit hinübergenommen, welche in die Reaktion eingetreten ist. Die in den Molekülen vorhandene Energiemenge, speziell aber die überflüssige Energie wird

---

[1]) Annalen 332, 286 ff.

[2]) Diese Zeitschr. 5, 60.

die Reaktionsschwingung veranlassen und die neugebildeten Moleküle, welche sich also in einem Zustande befinden, der ganz exzeptionell ist, müssen offenbar unter Umständen besondere Reaktionen zeigen. Wenn dann das Plus an Energie nach außen tritt, wandelt es sich in Wärme um; aber diese wirkt erst von außen her auf das Molekül ein und verteilt sich sofort, da sie auch die Nachbarmoleküle in Mitleidenschaft zieht. Immerhin können ja lokale Überhitzungen stattfinden, aber dieselben dürften keineswegs erheblich sein; außerdem müßten ihre Wirkungen stets mit der einer späteren Temperaturerhöhung zusammenfallen. Die eigentliche „Reaktionsschwingung" in meinem Sinne hat mit diesem Vorgange nichts mehr zu tun.

Im übrigen ist die Anschauung, daß bei Eintritt von Energieumschaltungen stets eine Umwandlung in Wärme stattfindet, durchaus nicht in allen Fällen haltbar; so sind nach der allgemeinen Auffassung die Leuchterscheinungen in tierischen und pflanzlichen Organismen an chemische Vorgänge geknüpft; es findet also hier eine Umwandlung von chemischer Energie in Lichtschwingung statt. Nach neueren Untersuchungen von Trautz sind derartige mit Leuchterscheinungen verbundene Reaktionen recht häufig und es ist nicht unwahrscheinlich, daß bei diesen Umformungen Energie noch in anderer, nicht meßbarer Weise austritt, so daß die Bestimmung der Wärme kein genaues Bild des Vorganges gibt.

Ich möchte zur Illustrierung meiner Anschauung nochmals auf die Tatsache hinweisen[1]), daß die Benzoylierung der Anthranilsäure in Pyridinlösung bei Temperaturen unter 0° direkt zum Benzoylanthranil führt. Es bildet sich natürlich zunächst Benzoylanthranilsäure, welche dann unter dem Einfluß der Reaktionsschwingung sofort in Benzoylanthranil übergeht. Natürlich wirkt sekundär auch die bei der Umwandlung der Energie auftretende Wärme ein, aber da fertig gebildete Benzoylanthranilsäure selbst beim Siedepunkte der Pyridinlösung kein Wasser abspaltet, wie sich das bei dem basischen Lösungsmittel eigentlich von selbst versteht, so ist die sekundäre Wirkung der Wärme wohl ausgeschlossen, da innerhalb einer Flüssigkeit eine noch höhere lokale Überhitzung wenig wahrscheinlich ist. Die Reaktionsschwingung ist also hier stärker als die Affinität der Benzoylanthranilsäure

---

[1]) Annalen **324**, 1 34.

zum Pyridin; sie vermag die Salzbildung zu vermeiden und den Ringschluß unmittelbar herbeizuführen.

Ausgeschlossen erscheint die Wohlsche Auffassung auch durch die von Einhorn und seinen Schülern beobachtete Tatsache[1]), daß die verschiedenen isomeren Nitrophenyl-β-Brompropionsäuren beim Behandeln mit kalter Sodalösung das Lacton der entsprechenden Nitrophenylmilchsäuren abscheiden; denn es ist bisher nicht gelungen, die freien Säuren wieder in das Lacton überzuführen.

---

[1]) Ber. der deutsch. chem. Ges. **16**, 2209, 3004; **17**, 595, 2021.

Berichtigung

zu: **J. Wohlgemuth,** Untersuchungen über den Pankreassaft des Menschen. IV.

(Diese Zeitschrift 4, 271.)

Auf Seite 274, 276, 280 ist zu lesen Aktivierung **statt** Sensibilisierung.



Stoffwechsels. **Tabelle I.**

– Nährstoffverhältnis in der Nahrung.

durch Kot	Resorbierter N	Brennwert des Resorbierten in Calorien	Resorbiert in % der Einnahme		Verlust durch den Urin		Retinierter N	Dem Körper zur Verfügung stehend. Energie in Calorien	Dem Körper zur Verfügung: in % des Resorbierten		in % des Eingeführten	
Calor.			N	Calor.	N in g	Calor.	in g		N	Calor.	N	Calor.
422	23,7	4751	83,5	92	21,9	233	+1,8	4518	7,6	95	6,3	87
350	27,6	5019	87,9	93	28,0	312	−0,4	4707	—	94	—	88
338	31,1	6229	89,1	95	25,6	276	+5,5	5953	17,7	96	15,8	91
280	27,7	5295	88,5	95	27,6	243	+0,1	5052	0,4	95	0,3	91
295	31,4	5991	88,7	95	26,2	310	+5,2	5681	16,6	95	14,7	90
366	39,0	7413	90,5	95	33,1	341	+5,9	7072	15,1	98	13,7	91
485	33,0	6776	86,4	93	25,6	298	+7,4	6478	22,4	96	19,4	89
374	31,9	7041	87,6	95	31,0	333	+0,9	6708	2,8	95	2,5	90
458	36,3	6842	86,4	94	31,9	349	+4,4	6493	12,1	95	10,5	89
634	33,8	6537	83,9	91	31,3	344	+2,5	6193	7,4	95	6,2	86
420	33,2	6391	86,2	94	31,8	312	+1,4	6079	4,2	95	3,6	89
619	41,7	8725	82,6	93	34,4	375	+7,3	8350	17,5	96	14,5	89
478	34,5	6760	86,7	93	32,4	348	+2,1	6412	6,1	95	5,3	89
672	41,9	9286	82,0	93	36,1	389	+5,8	8897	14,0	96	11,4	89
397	42,4	8014	88,3	95	39,5	391	+2,9	7623	6,8	95	6,0	91
391	45,4	9300	93,0	96	43,6	481	+1,8	8819	4,0	95	3,7	91
465	40,3	8067	87,6	95	35,4	368	+4,9	7699	12,2	95	10,7	90
372	28,6	5388	87,7	94	25,0	293	+3,6	5095	12,6	95	11,0	88
438	30,4	6101	84,2	93	31,3	317	−0,9	5784	—	95	—	88
535	35,4	8368	83,9	94	32,0	309	+3,4	8059	9,6	96	8,1	91
547	46,0	9057	88,6	94	37,1	372	+8,9	8685	19,4	96	17,1	90
367	43,1	8320	90,6	96	35,8	350	+7,3	7970	16,9	93	15,3	92
369	43,6	7972	91,8	96	42,3	419	+1,3	7553	3,0	95	2,7	89
492	47,2	10498	90,1	96	50,6	485	−3,4	10013	—	95	—	91
599	40,8	9293	83,1	94	40,7	407	+0,1	8886	0,2	96	0,2	90
533	41,2	7603	88,0	93	34,8	355	+6,4	7248	15,5	95	13,7	89
514	37,6	7984	83,2	94	36,4	387	+1,2	7597	3,2	94	2,7	89
513	43,5	9644	86,5	95	40,7	416	+2,8	9228	6,4	96	5,6	91
545	43,2	8080	87,3	94	43,4	415	−0,2	7665	—	95	—	89
388	47,2	9921	91,1	96	45,1	434	+2,1	9487	4,4	96	4,1	92
739	45,5	10593	81,7	93	42,6	443	+2,9	10150	6,4	96	5,2	90
338	25,6	5923	86,8	95	21,5	301	+4,1	5622	16,0	95	13,9	90
507	38,4	8885	—	—	32,3	452	+6,1	8433	—	—	—	—
			86,8	94						95		90
820	78,6	17497	90,1	96	84,3	809	−5,7	16688	—	95	—	91



Stoffwechsels. **Tabelle I.**

Nährstoffverhältnis in der Nahrung.

durch Kot	Resorbierter N	Brennwert des Resorbierten in Calorien	Resorbiert in % der Einnahme		Verlust durch den Urin		Retinierter N	Dem Körper zur Verfügung stehend. Energie in Calorien	Dem Körper zur Verfügung: in % des Resorbierten		Dem Körper zur Verfügung: in % des Eingeführten	
Calor.			N	Calor.	N in g	Calor.	in g		N	Calor.	N	Calor.
422	23,7	4751	83,5	92	21,9	233	+1,8	4518	7,6	95	6,3	87
350	27,6	5019	87,9	93	28,0	312	—0,4	4707	—	94	—	88
338	31,1	6229	89,1	95	25,6	276	+5,5	5953	17,7	96	15,8	91
280	27,7	5295	88,5	95	27,6	243	+0,1	5052	0,4	95	0,3	91
295	31,4	5991	88,7	95	26,2	310	+5,2	5681	16,6	95	14,7	90
366	39,0	7413	90,5	95	33,1	341	+5,9	7072	15,1	98	13,7	91
485	33,0	6776	86,4	93	25,6	298	+7,4	6478	22,4	96	19,4	89
374	31,9	7041	87,6	95	31,0	333	+0,9	6708	2,8	95	2,5	90
458	36,3	6842	86,4	94	31,9	349	+4,4	6493	12,1	95	10,5	89
634	33,8	6537	83,9	91	31,3	344	+2,5	6193	7,4	95	6,2	86
420	33,2	6391	86,2	94	31,8	312	+1,4	6079	4,2	95	3,6	89
619	41,7	8725	82,6	93	34,4	375	+7,3	8350	17,5	96	14,5	89
478	34,5	6760	86,7	93	32,4	348	+2,1	6412	6,1	95	5,3	89
672	41,9	9286	82,0	93	36,1	389	+5,8	8897	14,0	96	11,4	89
397	42,4	8014	88,3	95	39,5	391	+2,9	7623	6,8	95	6,0	91
391	45,4	9300	93,0	96	43,6	481	+1,8	8819	4,0	95	3,7	91
465	40,3	8067	87,6	95	35,4	368	+4,9	7699	12,2	95	10,7	90
372	28,6	5388	87,7	94	25,0	293	+3,6	5095	12,6	95	11,0	88
438	30,4	6101	84,2	93	31,3	317	—0,9	5784	—	95	—	88
535	35,4	8368	83,9	94	32,0	309	+3,4	8059	9,6	96	8,1	91
547	46,0	9057	88,6	94	37,1	372	+8,9	8685	19,4	96	17,1	90
367	43,1	8320	90,6	96	35,8	350	+7,3	7970	16,9	93	15,3	92
369	43,6	7972	91,8	96	42,3	419	+1,3	7553	3,0	95	2,7	89
492	47,2	10498	90,1	96	50,6	485	—3,4	10013	—	95	—	91
599	40,8	9293	83,1	94	40,7	407	+0,1	8886	0,2	96	0,2	90
533	41,2	7603	88,0	93	34,8	355	+6,4	7248	15,5	95	13,7	89
514	37,6	7984	83,2	94	36,4	387	+1,2	7597	3,2	94	2,7	89
513	43,5	9644	86,5	95	40,7	416	+2,8	9228	6,4	96	5,6	91
545	43,2	8080	87,3	94	43,4	415	—0,2	7665	—	95	—	89
388	47,2	9921	91,1	96	45,1	434	+2,1	9487	4,4	96	4,1	92
739	45,5	10593	81,7	93	42,6	443	+2,9	10150	6,4	96	5,2	90
338	25,6	5923	86,8	95	21,5	301	+4,1	5622	16,0	95	13,9	90
507	38,4	8885	—	—	32,3	452	+6,1	8433	—	—	—	—
			86,8	94						95		90
820	78,6	17497	90,1	96	84,3	809	—5,7	16688	—	95	—	91



Über die anticytolytische Wirkung von Salzen mit zweiwertigen Metallen.

Von

Jacques Loeb.

(From the Herzstein Research Laboratory of the University of California.)

(Eingegangen am 15. Juli 1907.)

1. Im Jahre 1899 wies ich darauf hin, daß die Salze von Ca, Mg und Sr die Zuckungen des Muskels hemmen, welche in Lösungen von Natrium- und Lithiumsalzen auftreten. Kurz darauf zeigte ich, daß die Eier von Fundulus, welche sowohl im Seewasser wie im destillierten Wasser sich zu entwickeln imstande sind, in einer mit dem Seewasser isosmotischen Lösung von NaCl rasch sterben, während der Zusatz von sehr kleinen Quantitäten eines Salzes mit einem zweiwertigen Metall diese giftigen Wirkungen verringert oder völlig aufhebt. Selbst so giftige Stoffe wie Zn und Pb hatten eine entgiftende Wirkung auf eine reine Chlornatriumlösung. Für den aus dem Ei ausgeschlüpften Fisch waren diese letzteren Stoffe zu giftig, aber die entgiftende Wirkung von Ca, Sr und Mg ließ sich sehr schön zeigen.[1])

In allen Versuchen am Muskel und anderen Organen höherer Tiere können wir die Änderungen, welche die Salze und andere toxische Agenzien hervorbringen, nicht direkt beobachten. In dieser Hinsicht stellen die Eier des Seeigels ein außerordentlich günstiges Material dar. Im Jahre 1904 stellte ich an den Eiern von Strongylocentrotus fest, daß dieselben in einer schwach alkalischen Lösung von Natriumsalzen sehr rasch in Schatten verwandelt werden (ich wählte die Lösung von 100 ccm NaCl, 3,8 ccm Na_2SO_4, 0,8 ccm $NaHCO_3$, alle halbgrammolekular), daß aber der Zusatz von $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ in der Konzentration, in

[1]) Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen, Leipzig 1906.

welcher diese Stoffe im Seewasser vorkommen, die Cytolyse hemmt.[1])

Im vorigen Jahr gab ich dann Daten[2]), welche zeigen, wie diese Tatsachen den Umstand erklären, daß alle Durchspülungsflüssigkeiten für tierische Zellen ein Gemisch der drei Salze NaCl, KCl und $CaCl_2$ in bestimmten Verhältnissen sein müssen. Das Calcium dient zur Hemmung der cytolytischen Wirkungen, welche die reine NaCl-Lösung bei alkalischer Reaktion hat — und das Kalium dient zur Hemmung eines anderen destruktiven Prozesses in der Zelle. Ich habe nun neuerdings gefunden, daß anscheinend alle zweiwertigen Metallionen die cytolytischen Wirkungen einer alkalischen Chlornatriumlösung zu hemmen imstande sind. Die Zahl der angestellten Versuche ist sehr groß, da mir aber die Zeit zu einer ausführlichen Mitteilung fehlt, will ich mich mit der Erwähnung einiger wesentlicher Punkte begnügen.

2. Zu je 50 ccm einer alkalischen Chlornatriumlösung (50 $\frac{m}{2}$ NaCl + 0,6 ccm $\frac{n}{10}$ NaHO) wurden 0, 0,1, 0,2, 0,4, 0,8 ccm $\frac{m}{2}$ $CaCl_2$ gefügt und die frisch befruchteten Eier eines Seeigels in diese Lösungen verteilt. Während die Eier ohne $CaCl_2$ ziemlich rasch, die mit 0,1 ccm $CaCl_2$ langsamer der Cytolyse verfielen, blieben die Eier mit 0,2 und mehr $CaCl_2$ intakt; dieselben fingen sogar an, sich zu furchen. Dasselbe Resultat wurde in einer großen Zahl von Versuchen erzielt. Die minimale Konzentration der Hydroxylionen, bei der in einer reinen Chlornatriumlösung Cytolyse der befruchteten Seeigeleier eintritt, ist außerordentlich verschieden. Die Eier mancher Weibchen verfallen der Cytolyse sehr rasch in einer Mischung von5 0 $\frac{m}{2}$ NaCl + 0,2 ccm $\frac{n}{10}$ NaHO, während bei den Eiern anderer Weibchen fünf- bis zehnmal so viel NaHO erforderlich ist, um die Cytolyse mit gleicher Geschwindigkeit herbeizuführen. In allen Fällen genügte der Zusatz von 0,2 ccm $\frac{m}{2}$ $CaCl_2$, um die Cytolyse zu verhindern. Nur wenn eine exzessive Quantität NaHO zugesetzt wurde, z. B. 3,0 ccm $\frac{n}{10}$ NaHO zu 50 ccm $\frac{m}{2}$ NaCl, war der Zusatz von 0,2 und selbst

[1]) Pflügers Archiv f. Physiol. **103**, 1904.

[2]) Diese Zeitschr. **2**, 81, 1906.

0,4 ccm $\frac{m}{2}$ $CaCl_2$ nicht mehr ausreichend, die Cytolyse zu hemmen.

3. Da sowohl Ca wie Mg eine therapeutische Anwendung gefunden haben und in vielen Punkten gleich wirken, so war ein Vergleich der relativen anticytolytischen Wirksamkeit beider von Interesse. Es wurde deshalb mit den Eiern desselben Weibchens, die zu dem vorhin erwähnten Calciumversuch dienten, auch eine Versuchsreihe mit $MgCl_2$ als anticytolytischem Salz angestellt. Zu je 50 ccm $\frac{m}{2}$ NaCl + 0,6 ccm $\frac{n}{10}$ NaHO wurden 0, 0,1, 0,2, 0,4, 0,8, 1,6, 2,0, 3,0, 4,0 6,0 ccm $\frac{m}{2}$ $MgCl_2$ gefügt und die frisch befruchteten Eier in diese Lösungen verteilt (nachdem sie vorher, wie in all diesen Versuchen, mit einer reinen neutralen NaCl-Lösung gewaschen waren). In allen Lösungen mit weniger als 3,0 ccm $MgCl_2$ trat Cytolyse ein! Es stellte sich also hier und in anderen ähnlichen Versuchen heraus, daß die anticytolytische Wirksamkeit von $MgCl_2$ (gegen eine leicht alkalische Chlornatriumlösung) etwa fünfzehnmal geringer ist als die einer $CaCl_2$-Lösung!

Die therapeutische Bedeutsamkeit dieser Tatsache erhellt aus folgender Überlegung. Wie Bock und Hofmann gefunden haben, bewirkt eine reine NaCl-Lösung, wenn sie in genügender Menge injiziert wird, Glukosurie. Ich vermutete, daß $CaCl_2$ diese Glukosurie hemmen würde, und die von meinem früheren Assistenten Fischer angestellten Versuche bestätigten diese Vermutung. Dr. Burnett fand nun neuerdings im hiesigen Institut, daß Seewasser (durch Verdünnung mit dem Blute isotonisch gemacht) Glukosurie hervorruft, und eine nähere Untersuchung zeigte, daß das im Seewasser enthaltene Mg hierfür verantwortlich ist. Injizierte er nämlich einem Kaninchen eine reine Chlornatriumlösung (in hinreichender Menge), so trat Glukosurie ein; injizierte er dieselbe Chlornatriummenge mit einem Zusatz von Calciumchlorid, so trat keine Glukosurie ein; wurde aber ein Gemisch von NaCl, $CaCl_2$, $MgCl_2$ in dem Verhältnis injiziert, in dem diese Stoffe im Seewasser enthalten sind, so trat wieder, wenn die injizierte Menge ausreichte, Glukosurie ein. Ich vermute, daß hierbei der schon früher von Oscar Loew, J. B. Mac Callum und mir selbst konstatierte Antagonismus, der in bezug auf manche Wirkungen von Ca und Mg herrscht, zum Ausdruck kommt. Man wird also gut daran tun, wo es sich um gleichartige

therapeutische Wirkungen von Ca und Mg handelt, dem Calcium den Vorzug zu geben.

4. In Parenthese möchte ich noch auf einen Umstand hinweisen, der gleichfalls durch die eben erwähnten quantitativen Unterschiede in der Wirksamkeit von Ca und Mg eine Erläuterung findet. $CaCl_2$ sowohl wie $MgCl_2$ hemmen die in einer NaCl-Lösung auftretenden Muskelzuckungen. Mac Callum fand[1]), daß beide auch die peristaltische Bewegung des Darmes hemmen. Nichtsdestoweniger ist $MgSO_4$ ein Abführmittel. Das beruht darauf, daß SO_4 (wie alle Anionen, welche die Konzentration der freien Calciumionen vermindern) ein starker Erreger von peristaltischen Bewegungen ist, während Mg nur in schwächerem Grad die peristaltischen Bewegungen hemmt. Da aber die Wirkungen der Salze additive Funktionen ihrer Ionen sind, so ist $MgSO_4$ trotz der hemmenden Wirkung des Mg-Ions ein wirksames Abführmittel. $CaSO_4$ ist aber nie als Abführmittel verwendet worden, wohl aus dem einfachen Grunde, weil die hemmende Wirkung des Calciumions auf die peristaltischen Bewegungen (und die Sekretion von Flüssigkeit in den Darm) so ungleich viel größer ist als die hemmende Wirkung des Magnesiumions.

5. Es ist theoretisch von Bedeutung, daß auch so giftige zweiwertige Kationen, wie Barium und Zink, den Eiern einen Schutz gegen die cytolytische Wirkung einer alkalischen Chlornatriumlösung gewähren. Was die anticytolytische Wirksamkeit von $BaCl_2$ anbelangt, so ist sie nur sehr wenig geringer als die des Calciums. Wenn man eine Chlornatriumlösung mit derjenigen Konzentration der Hydroxylionen wählt, bei der gerade die Schattenbildung der Eier hervorgerufen wird, und wenn man zu 50 ccm einer solchen Lösung 0,4 bis 0,8 ccm $\frac{m}{2}$ $BaCl_2$ zusetzt, so bleibt die Cytolyse aus; und wenn man die Eier nicht zu lange in einer solchen Lösung läßt, so können sie nach Übertragung in normales Seewasser sich normal entwickeln.

Das gleiche gilt für die Aufhebung der antitoxischen Wirkung einer alkalischen Chlornatriumlösung durch $ZnSO_4$. Hier kommt allerdings ein Nebenumstand in Betracht, der zur Vorsicht auffordert, nämlich die saure Reaktion dieser Lösung infolge der

---

[1]) J. B. Mac Callum, University of California Publications, 1906.

hydrolytischen Dissoziation und die Fällung von $Zn(HO)_2$ bei zu hoher Alkalinität der Lösung. Das gleiche gilt auch für die antitoxischen Wirkungen von $NiCl_2$, die sich leicht beobachten lassen. Um die anticytolytische Wirkung von $ZnSO_4$ zum Ausdruck zu bringen, wurde erst die zur Cytolyse nötige Quantität von NaHO ermittelt, die man zu 50 ccm $\frac{m}{2}$ NaCl zusetzen mußte. Wenn man diese oder eine höhere Quantität von NaHO wählte, so konnte man durch Zusatz von 0,1 ccm einer grammolekularen Lösung von $ZnSO_4$ zu 50 ccm der alkalischen Chlornatriumlösung die Cytolyse dauernd hemmen. Blieben die Eier nicht zu lange in einer solchen Lösung, so entwickelten sie sich nach der Übertragung in normales Seewasser.

6. Wie ich schon in einer früheren Abhandlung betonte, treten in einer reinen NaCl-Lösung zwei Arten von Cytolyse bei den befruchteten Seeigeleiern ein, von denen die eine der gewöhnlich als Cytolyse bezeichneten Schattenbildung der roten Blutkörperchen entspricht. Nur diese Form der Cytolyse wird durch den Zusatz von Ca und anderen zweiwertigen Kationen aufgehoben. Die andere Form der Cytolyse wird durch K aufgehoben. Es ist deshalb vorteilhafter, statt der reinen NaCl-Lösung eine Mischung von 50 ccm $\frac{m}{2}$ NaCl + 1 ccm $\frac{m}{2}$ KCl anzuwenden. Fügt man einer solchen Mischung dann den nötigen Betrag NaHO hinzu, so tritt die Schattenbildung genau in derselben Weise ein wie in der reinen alkalischen Chlornatriumlösung, aber die Komplikation der Versuche mit der durch Kaliummangel bedingten Zerstörung der Eier wird vermieden.

7. Es ist mir bis jetzt nicht gelungen, durch Säurezusatz zu einer NaCl-Lösung Schattenbildung bei Eiern hervorzurufen. Alle die angeführten Resultate beziehen sich auf alkalische Chlornatriumlösungen.

8. Alle die bisher erwähnten Angaben beziehen sich auf frisch befruchtete, ungefurchte Seeigeleier. Verwendet man unbefruchtete Eier, so wird man finden, daß dieselben ungemein viel widerstandsfähiger gegen die cytolytische Wirkung einer alkalischen Chlornatriumlösung sind als die befruchteten Eier desselben Weibchens. Auch gegen Sauerstoffmangel und die Wirkung neutraler Salzlösungen sind die unbefruchteten Eier

viel resistenter als die befruchteten. Für NaCl-Lösungen habe ich das früher schon erwähnt. Ich habe neuerdings dasselbe auch für $CaCl_2$-Lösungen bestätigt gefunden. Unbefruchtete Eier entwickelten sich noch zu Pluteen, wenn sie 3 Tage lang in einer sehr schwach alkalischen $^3/_8$ m-Calciumchloridlösung gelegen hatten und dann nach Übertragung in normales Seewasser befruchtet wurden. Die befruchteten Eier desselben Weibchens waren nicht mehr fähig, sich zu Pluteen zu entwickeln, nachdem sie 3 Stunden in derselben Calciumchloridlösung gewesen waren. Die Empfindlichkeit der befruchteten Eier gegen eine reine Calciumchloridlösung ist also 24 mal so groß als die der unbefruchteten Eier desselben Weibchens. Man könnte nun annehmen, daß durch die Befruchtung das Ei durchgängiger für Salze (Alkalien und Säuren inklusive) wird; das mag richtig sein, aber es läßt die Tatsache unerklärt, daß das befruchtete Ei auch gegen Sauerstoffmangel so viel empfindlicher ist als das unbefruchtete.

Wenn die toxische Wirkung einer Substanz auf chemischen Reaktionen derselben beruht, so kommt neben der Geschwindigkeit, mit der dieselbe in die Zellen diffundiert, auch die Geschwindigkeit der chemischen Reaktionen in den letzteren in Betracht. So habe ich beispielsweise bei (noch nicht veröffentlichten) Versuchen über den Temperaturkoeffizienten der Vergiftung durch Säuren gefunden, daß derselbe demjenigen für chemische Reaktionen nahe liegt. Im befruchteten Ei gehen nun sehr lebhafte Nucleinsynthesen sowie Oxydationsvorgänge vor sich, die dem unbefruchteten Ei fehlen. Es ist möglich, daß gerade hierbei Änderungen in gewissen Bestandteilen in der Zelle eintreten, welche den Zerfall der Zelle unter dem Einfluß toxischer Agenzien begünstigen. Nebenbei mag auch die Diffusion von Elektrolyten in die befruchteten Eier rascher erfolgen als in die unbefruchteten Eier.

9. In einer früheren Arbeit habe ich darauf hingewiesen, daß Neutralrot im befruchteten Ei fester gebunden ist als im unbefruchteten Ei[1]); in dem letzteren scheint das Neutralrot wesentlich nur gelöst, aber nicht gebunden zu sein. Wenn es berechtigt ist, anzunehmen, daß Natronlauge sich ähnlich verhält wie Neutralrot, so kann man sich vorstellen, daß im befruchteten Ei sich seifenartige Natronverbindungen in größerer Menge bilden

als im unbefruchteten. Auf der Bildung dieser Natronseifen beruht vielleicht die Cytolyse. Ist aber Ca oder ein anderes zweiwertiges Metall in der Lösung, so ist dem Massenwirkungsgesetz entsprechend neben NaHO auch $Ca(HO)_2$ in Lösung und neben den Natronseifen werden auch Calciumseifen — oder seifenartige Verbindungen — entstehen. Infolge der Unlöslichkeit der Calciumseifen — oder der Seifen der anderen zweiwertigen Metalle — bleibt die Struktur der Zelle erhalten.

Ich glaube, daß diese Ansichten mit den jüngst in dieser Zeitschrift veröffentlichten Anschauungen von L. v. Liebermann[2]) in Einklang zu bringen sind. Ich muß jedoch bemerken, daß ich schon vor zwei Jahren mich bemühte, Cytolyse des Seeigels durch Natriumoleat herbeizuführen, daß aber diese Versuche mißlangen, vermutlich weil die kolloidalen Seifen nicht durch die Eimembran zu diffundieren imstande sind.

---

[1]) Diese Zeitschr. 2, 34, 1906.

[2]) Diese Zeitschr. 4, 25, 1907.

Über hämolytische Wirkungen isomerer Verbindungen.

Von

A. J. J. Vandevelde (Gent-Belgien).

(Eingegangen am 8. Juli 1907.)

Mit meiner quantitativen Methode[1]) habe ich schon früher[2]) gefunden, daß isomere Verbindungen nicht dieselbe Wirkungen auf die Hämolyse der Blutkörperchen ausüben. Bei den Estern: Ameisensäureisopropylester, $H - CO_2 - CH(CH_3)_2$, Propionsäuremethylester, $CH_3 - CH_2 - CO_2 - CH_3$, und Essigsäureäthylester, $CH_3 - CO_2 - CH_2 - CH_3$, welche alle drei dasselbe Molekulargewicht, $C_4H_8O_2 = 88$, besitzen, wie auch bei den drei isomeren Estern mit dem Molekulargewicht $C_6H_{12}O_2 = 116$, den Essigsäurebutylester, $CH_3 - CO_2 - CH_2 - CH(CH_3)_2$, den Isobuttersäureäthylester, $(CH_3)_2CH - CO_2 - CH_2 - CH_3$, und den Propionsäureisopropylester, $CH_3 - CH_2 - CO_2 - CH(CH_3)_2$, fand ich sehr regelmäßige Veränderungen.

Je zwei Isomere, welche als asymmetrisch anzusehen sind, weisen einen minder kritischen Koeffizienten, folglich eine höhere Toxizität, auf; bei den sogenannten symmetrischen Isomeren ist der kritische Koeffizient höher, folglich die Toxizität geringer, wie die folgenden Werte zeigen:

A. Isomere $C_4H_8O_2 = 88$	Kritische Koeffizienten	Molekulare Toxizität
Ameisensäure-isopropylester (asym.) . . .	5,67	2,95
Propionsäure-methylester (asym.)	5,67	2,95
Essigsäure-äthylester (sym.)	11,31	5,91
B. Isomere $C_6H_{12}O_2 = 116$		
Essigsäure-isobutylester (asym.)	4,34	1,72
Isobuttersäure-äthylester (asym.)	4,85	1,92
Propionsäure-isopropylester (sym.)	5,19	2,06

[1]) Chem.-Ztg. **1905**, 29, Nr. 41; Ann. Soc. med. Gand **1905**, 37; Diese Zeitschr. 1, 1—7, 1906.

[2]) Bull. Soc. chim. Belg. **1905**, 19, No. 10; Chem.-Ztg. **1906**, 30, Nr. 27.

Seitdem habe ich untersucht, ob Isomere anderer Art auch einen bestimmten Einfluß auf die hämolytischen Eigenschaften der Blutkörperchen ausüben, und wählte dazu einige Ortsisomere der aromatischen Reihe, nämlich substituierten Benzoesäuren. Die untersuchten Ester wurden von mir hergestellt; die Benzoesäuren waren Mercksche Produkte puriss. Alle wurden auf Reinheit geprüft. Wie früher, wurden die Mengen der Flüssigkeiten genau volumetrisch gemessen, und folglich blieb meine schon früher angewandte Methode unverändert.

Die Untersuchungen wurden mit den drei Methyl-, Oxy-, Nitro- und Amiobenzoesäuren ausgeführt, gelöst bei Anwesenheit von 0,9 GV % Kochsalz in Äthylalkohol (50 V %) und in einer Konzentration von 1 Millimol in 100 ccm.

A. Methylbenzoesäuren, $CH_3-C_6H_4-CO_2H = 136{,}1$.

Die untersuchten Flüssigkeiten wurden durch Auflösen von 0,1361 g in 100 ccm bereitet.

Die kritischen Flüssigkeiten halten von diesen Säureauflösungen, in ccm:

	Nach	In 5 ccm	In 100 ccm
Ortho	10 Min.	1,3	26
	3 St.	0,9	18
	24 St.	0,7	14
Meta	10 Min.	1,4	28
	3 St.	1,1	22
	24 St.	0,8	16
Para	10 Min.	1,5	30
	3 St.	1,1	22
	24 St.	0,9	18

Nach 3 Stunden haben folglich die kritischen Lösungen in 100 ccm die folgende Zusammensetzung:

Ortho: 9 ccm oder 7,1487 g abs. Äthylalkohol und 0,024498 g Säure, welche isotoxisch sind mit 15,4888[1]) — 7,1487 = 8,3401 g Äthylalkohol.

[1]) Kritischer Koeffizient des reinen Äthylalkohols; siehe: Diese Zeitschr. 1, 4, 1906.

Meta und Para: 11 ccm oder 8,7373 g abs. Äthylalkohol und 0,029942 g Säure, welche isotoxisch sind mit 15,4888 — 8,7373 = 6,7515 g Äthylalkohol.

Die kritischen Koeffizienten[1]) ergeben sich durch Berechnung:

Für Orthotoluylsäure: 0,29,
Metatoluylsäure : 0,44,
Paratoluylsäure : 0,44.

B. Oxybenzoesäuren, $HO - C_6H_4 - CO_2H = 138,1$.

Die Säurelösungen wurden aus 0,1381 g und 100 ccm bereitet; die kritischen Lösungen halten von diesen Säureauflösungen, in ccm:

	Nach	In 5 ccm	In 100 ccm
Ortho	10 Min.	1,0	20
	3 St.	0,8	16
	24 St.	0,7	14
Meta	10 Min.	1,6	32
	3 St.	1,1	22
	24 St.	0,9	18
Para	10 Min.	1,7	34
	3 St.	1.3	26
	24 St.	0,9	18

Nach 3 Stunden ist die Zusammensetzung der kritischen Lösungen für 100 ccm:

Ortho: 7 ccm oder 6,3544 g abs. Äthylalkohol und 0,022096 g Säure, welche isotoxisch sind mit 15,4888—6,3544 = 9,1344 g Äthylalkohol.

Meta: 11 ccm oder 8,7373 g abs. Äthylalkohol und 0,030382 g Säure, welche isotoxisch sind mit 15,4888—8,7373 = 6,7515 g Äthylalkohol.

Para: 13 ccm oder 10,3259 g abs. Äthylalkohol und 0,035906 g Säure, welche isotoxisch sind mit 15,4888—10,3259 = 5,1629 g Äthylalkohol.

---

[1]) $\frac{0{,}024498 \times 100}{8{,}3401} = 0{,}29$, usw.

Die kritischen Koeffizienten findet man durch Berechnung:

Für Salicylsäure : 0,24,
Metaoxybenzoesäure: 0,45,
Paraoxybenzoesäure: 0,69.

C. Nitrobenzoesäuren, $NO_2 - C_6H_4 - CO_2H = 167,1$.

Die gebrauchten Lösungen wurden aus 0,1671 g und 100 ccm bereitet. Die kritischen Lösungen halten von diesen Säureauflösungen die folgenden Mengen, in ccm:

	Nach	In 5 ccm	In 100 ccm
Ortho	10 Min.	1,2	24
	3 St.	1,1	22
	24 St.	0,9	18
Meta	10 Min.	1,2	24
	3 St.	1,0	20
	24 St.	0,8	16
Para	10 Min.	1,3	26
	3 St.	1,1	22
	24 St.	0,9	18

Nach 3 Stunden halten die kritischen Auflösungen in 100 ccm:

Ortho und Para: 11 ccm oder 8,7373 g abs. Äthylalkohol und 0,036762 g Säure, welche isotoxisch sind mit 15,4888—8,7373 = 6,7515 g Äthylalkohol.

Meta: 10 ccm oder 7,9430 g abs. Äthylalkohol und 0,03342 g Säure, welche isotoxisch sind mit 15,4888—7,9430 = 7,5458 g Äthylalkohol.

Die berechneten kritischen Koeffizienten sind:

Für Orthonitrobenzoesäure: 0,54,
Metanitrobenzoesäure : 0,46,
Paranitrobenzoesäure : 0,54.

D. Aminobenzoesäuren, $NH_2 - C_6H_4 - CO_2H = 137,1$.

Die gebrauchten Lösungen wurden und 0,1371 g Säure und 100 ccm bereitet. Die kritischen Lösungen halten von diesen Säureauflösungen die folgenden Mengen:

	Nach	In 5 ccm	In 100 ccm
Ortho	10 Min.	1,8	36
	3 St.	1,3	26
	24 St.	0,9	18
Meta	10 Min.	1,8	36
	3 St.	1,4	28
	24 St.	1,0	20
Para	10 Min.	1,9	38
	3 St.	1,5	30
	24 St.	1,1	22

Nach 3 Stunden halten die kritischen Auflösungen in 100 ccm:

Ortho: 13 ccm oder 10,3259 g abs. Äthylalkohol und 0,035646 g Säure, welche isotoxisch sind mit 15,4888—10,3259 = 5,1629 g Äthylalkohol.

Meta: 14 ccm oder 11,1202 g abs. Äthylalkohol und 0,038384 g Säure, welche isotoxisch sind mit 15,4888—11,1202 = 4,3686 g Äthylalkohol.

Para: 15 ccm oder 11,9145 g abs. Äthylalkohol und 0,04113 g Säure, welche isotoxisch sind mit 15,4888—11,9145 = 3,5743 g Äthylalkohol.

Die kritischen Koeffizienten findet man durch Berechnung:

Für Orthoaminobenzoesäure: 0,69,
Metaaminobenzoesäure : 0,88,
Paraaminobenzoesäure : 1,15.

Daraus ist abzuschließen, daß die hämolytische Toxizität gewöhnlich abnimmt, wenn zwei Substituenten die Meta- oder Parastellung einnehmen; so sind die Ortho- am stärksten hämolytisch, die Meta- und die Paraverbindungen dagegen minder hämolytisch. Auch nimmt im großen und ganzen die Toxizität nach der Reihe Methyl, Nitro, Oxy und Amino ab:

Kritische Koeffizienten.

	Methyl	Nitro	Oxy	Amido
Ortho	0,29	0,54	0,24	0,69
Meta	0,44	0,46	0,45	0,88
Para	0,44	0,54	0,69	1,15

Die drei Nitrobenzoesäuren besitzen nahezu dieselben hämolytischen Eigenschaften.

Auch können die hämolytischen Grenzwerte für 100 ccm Flüssigkeit in Millimolen der benutzten Substanzen ausgedrückt werden. Es enthalten die kritischen Auflösungen nach 3 Stunden:

Benzoesäuren		Millimolen Äthylalkohol	Millimolen Säuren
Methyl	Ortho	155,41 [1])	0,18 [2])
	Meta	189,94	0,22
	Para	189,94	0,22
Nitro	Ortho	189,94	0,22
	Meta	172,67	0,20
	Para	189,94	0,22
Oxy	Ortho	138,14	0,16
	Meta	189,94	0,22
	Para	224,47	0,26
Amino	Ortho	224,47	0,26
	Meta	241,74	0,28
	Para	259,01	0,30

Die totalen Mengen von Millimolen der aktiven Substanzen sind demnach:

	Methyl	Nitro	Oxy	Amido
Ortho	155,59	190,16	138,30	224,73
Meta	190,16	172,87	190,16	242,02
Para	190.16	190,16	224,73	259,31

Die kritische Lösung des Äthylalkohols allein enthält in 100 ccm 15,4888 : 0,046 = 336,71 Millimol aktiver Substanz.

Hier muß ich noch mitteilen, daß die hämolytischen Erscheinungen von einer Eiweißkörperpräzipitation begleitet sind, die nach einigen Stunden unter dem Einfluß der gebrauchten Säuren eintritt. Diese Präzipitation hängt von der Stärke der

[1]) 7,1487 : 0,046 = 155,41; ein Millimol Äthylalkohol = 0,046.

[2]) 0,029498 : 0,1361 = 0,18; ein Millimol Methylbenzoesäure = 0,1361.

Säuren ab; die Minimalmengen der Säureauflösungen, bei welchen sie stattfindet, sind nach 24 Stunden in 5 ccm:

	Methyl	Nitro	Oxy	Amido
Ortho	1,5	1,3	1,3	1,6
Meta	1,5	1,4	1,6	1,6
Para	1,5	1,5	1,6	1,8

Die präzipitierenden Eigenschaften der untersuchten Säuren nehmen folglich ab mit der Stellung Ortho, Meta bis Para in gleicher Weise wie bei den Hämolyseerscheinungen.

Weitere Beiträge zur Methodik der Enteiweißung.

Von

P. Rona und L. Michaelis.

(Aus dem chemischen und dem bakteriologischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 5. Juli 1907.)

I.

Wie wir in einer Reihe früherer Arbeiten mitgeteilt haben[1]), ist die Fällung des Eiweißes durch Mastixsuspension, solange die Reaktion der Flüssigkeit nicht alkalisch ist, ein irreversibler Vorgang. Wir hatten ferner gezeigt, daß die Ausfällung des Eiweißes durch Mastix bei einigermaßen erheblicheren Eiweißmengen (über 1%) stets unvollkommen ist, und schlugen deshalb eine vorherige Entfernung der Hauptmasse des Eiweißes durch Alkohol (oder auf einem anderen Wege) vor. Diese Vorfällung können wir nun auf einfache Weise umgehen, wodurch die Anwendbarkeit der Methode wesentlich vereinfacht wird.

Wenn man nämlich eine größere Menge Mastix nicht auf einmal, sondern in einzelnen Portionen nacheinander zufügt, so wird jedesmal von dem noch in Lösung gebliebenen Eiweiß ein Teil entfernt, bis schließlich praktisch alles Eiweiß gefällt ist. Wie die Erfahrung gelehrt hat, genügt eine 2—3malige Fraktionierung mit verhältnismäßig nicht großen Mengen Mastix; zwischen den einzelnen Prozeduren hat man nicht nötig zu filtrieren, da ja, wie gesagt, die Fällung irreversibel ist.

Im einzelnen gestaltet sich die Enteiweißung von Blutserum folgendermaßen: 50 ccm Serum werden unverdünnt mit 500 ccm Mastixlösung (10prozentige alkoholische Mastixlösung mit der doppelten Menge Wasser durch plötzliches Zusammen-

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. **2**, 219; **3**, 109; **4**, 11.

gießen verdünnt) versetzt und mit Essigsäure (20 ccm einer 10prozentigen Essigsäure) schwach angesäuert. Nach etwa halbstündigem Warten fügt man wieder dieselbe Menge Mastixlösung portionsweise hinzu, säuert wieder mit 20—30 ccm 10prozentiger Essigsäure an und gibt in Portionen 20—30 ccm 10prozentiger Magnesiumsulfatlösung dazu, bis eine deutliche Flockung eintritt. Nach kurzer Zeit, eventuell nach Digerieren im lauwarmen Wasserbade, ist die Flüssigkeit leicht und klar filtrierbar und frei von Eiweiß.

Eventuell vorhandene Albumosen muß man, wie früher angegeben, sowohl aus dem Filtrat wie aus dem Niederschlag wiedergewinnen.

Volles, noch blutkörperchenhaltiges Blut wird durch diese zweimalige Fraktionierung gewöhnlich noch nicht ganz enteiweißt. Es ist nötig, noch ein drittes Mal die gleiche Menge Mastix in Portionen und zum Schluß zur Erzielung einer guten Flockung noch einmal nach Bedarf Magnesiumsulfat zuzugeben.

Von Elektrolyten erwies sich gerade das Magnesiumsulfat als besonders geeignet, ohne daß wir dafür eine theoretische Erklärung geben können.

II.

Aus später zu erörternden Gründen bemühten wir uns, ähnliche Enteiweißungsmethoden durch Adsorption mit anderen Adsorbentien als Mastix auszuarbeiten. Es ist schon lange bekannt, daß auch andere Kolloide und überhaupt pulverige Substanzen mit großer Oberfläche, wie Tierkohle, Kaolin, frisch gefälltes Eisenhydroxyd, Meerschaum u. dgl., mehr oder weniger die Eigenschaft haben, Eiweiß an sich zu reißen. Eingehende Untersuchungen darüber sind von Landsteiner und Uhlirz[1]) ausgeführt worden. Auch diese Autoren berichten schon, daß einige der von ihnen untersuchten pulverigen Substanzen bis zu 100% des gelösten Eiweißes zu absorbieren vermögen. Von diesem Prinzip aus könnte man eine große Zahl von Enteiweißungsmethoden ausarbeiten. Wir haben die Enteiweißung durch kolloidales Eisenhydroxyd sowie durch Kaolinpulver näher

[1]) Centralbl. Bakt. Parasit. Abt. 1, **40**, 265, 1905. Über die Adsorption von Eiweißwkörpern.

verfolgt. Wir beschreiben hiermit die äußerst einfache Kaolinmethode.

Blutserum wird mit 12—15 Teilen Wasser verdünnt und mit so viel Essigsäure angesäuert, daß die anfänglich entstehende Trübung sich wieder aufhellt. Dann fügt man auf je 100 ccm Flüssigkeit 20 bis höchstens 25 g Kaolinpulver hinzu, und zwar etwa in 4—5 Portionen, jedesmal unter kräftigem Durchschütteln. Damit ist die ganze Enteiweißung beendet. Der Niederschlag wird am besten abgenutscht.

Die Albumosen verhalten sich dabei derart, daß sie zu einem sehr großen Teil mit adsorbiert werden. Es ist uns aber trotz umständlicher Versuche bis jetzt nicht gelungen, sie quantitativ aus dem Niederschlag wieder zu gewinnen. Es fehlen bis zu 50% der zu erwartenden Albumosen. Es ist deshalb überflüssig, auf die in dieser Richtung angestellten Versuche näher einzugehen.

Ein besonderer Vorzug dieser so einfachen Methode liegt aber darin, daß Traubenzucker, sowohl in größeren Konzentrationen von mehreren Prozenten, wie auch in geringen Konzentrationen von $^1/_2{}^0/_{00}$, absolut nicht vom Kaolin adsorbiert wird und sich ganz im Filtrat wiederfindet. Zwar wird Traubenzucker auch nicht vom Mastix adsorbiert, aber im Mastixfiltrat findet sich bald mehr, bald weniger ein reduzierender, aus dem Mastix stammender Körper, der die quantitative Zuckerbestimmung durch Reduktionsmethoden vereitelt.

Die Kaolinmethode dürfte sich deshalb dazu eignen, um über die Natur und Menge des Blutzuckers Auskunft zu geben. Die Untersuchungen darüber sind im Gange, und wir bitten, diese Nutzanwendung der Methode uns vorläufig zu überlassen.

Untersuchungen über die Gallenhämolyse.

I. Mitteilung.

Über die Hemmungswirkung normaler Sera.

(Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie der k. k. Universität Innsbruck.)

Von

Dr. Gustav Bayer,
Assistent am Institute.

(Eingegangen am 8. Juli 1907.)

Die durch die Galle hervorgerufene Auflösung der roten Blutkörperchen ist bisher nur sehr selten zum Gegenstande biochemischer Untersuchungen gewählt worden, obwohl diese Erscheinung unser Interesse in hohem Maße verdient; dem Biologen muß sich die Frage aufdrängen, welche Schutzmaßregeln dem Organismus gegen das selbsterzeugte Gift zur Verfügung stehen, und die Beantwortung dieser Frage könnte vielleicht dem Kliniker Anhaltspunkte zur Ausarbeitung einer rationellen Therapie cholämischer Zustände bieten.

Dann hat sich aber auch das Studium der durch chemisch definierbare Substanzen bewirkten Hämolysen insofern als vorteilhaft erwiesen, als uns die auf diesem minder beschwerlichen Wege gewonnenen Erfahrungen Hinweise zum Verständnis der komplizierteren Probleme der Serumhämolysine liefern. Hinsichtlich dieser Gesichtspunkte schien also ein tieferes Eindringen in das Gebiet der Gallenhämolyse eine dankbare Aufgabe zu sein.

Die vorliegende Untersuchung knüpft an die Ergebnisse Lüdkes[1]) an, der, als der erste und meines Wissens einzige, die Methoden der Immunitätslehre auf das Studium der Gallen-

---

[1]) H. Lüdke, Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., Abt. I, Orig.-Bd. **42**, Nr. 5, 455—462 u. Nr. 6, 552—561 (Oktober 1906).

wirkung angewendet und einige sehr wesentliche Tatsachen zutage gefördert hat. Besondere Beachtung erheischt wohl die Angabe, daß es gelinge, durch wiederholte Galleninjektion die antihämolytische Fähigkeit, die dem Serum gegenüber der Cholathämolyse normalerweise zukommt, zu steigern, also eine reaktive Bildung von Schutzstoffen auszulösen. Einen hiermit übereinstimmenden Befund konnte auch schon Scandaliato[1]) erheben, so daß an der Richtigkeit der Beobachtung wohl nicht zu zweifeln sein dürfte. Hingegen bietet die Erklärung der Erscheinung beträchtliche Schwierigkeiten. Denn schon die Umstände, daß die normale Schutzkraft des Serums nur um weniges erhöht wird, und daß dieses neuerworbene Plus bereits nach mehreren Tagen wieder verschwindet, sprechen gegen die Annahme einer wahren Immunität, die der durch Toxininjektionen erzeugbaren zu analogisieren wäre. Weiterhin müssen sich aber gegen eine solche Annahme auch gewichtige theoretische Bedenken erheben: denn „der Satz, daß allen chemisch gut definierten Substanzen die Fähigkeit abgeht, Antitoxine zu erzeugen, besteht noch heute voll und ganz zu Recht"[2]), und es wäre wohl sehr gewagt, für die gallensauren Salze eine Ausnahme statuieren zu wollen.

Lüdke selbst faßt denn auch die gebildete antilytische Substanz nicht als immunisatorisch erzeugten Antikörper auf. Da aber eine andere Erklärung für dieses Phänomen zurzeit nicht zu geben ist, scheint es am Platze, nach einer solchen zu forschen. Bevor aber dieses Problem in Angriff genommen werden kann, muß naturgemäß erst die Frage nach dem Wesen der Hemmungsstoffe des normalen Serums gegen die Gallenhämolyse erledigt werden.

Dieser Aufgabe soll in der vorliegenden Mitteilung näher getreten werden, zumal da ihre Beantwortung auch noch in anderer Beziehung von Interesse sein könnte und vielleicht Anhaltspunkte beim Aufsuchen des für die Galle angreifbaren Bestandteiles der Erythrocyten, des giftempfindlichen Receptors, liefern könnte. Es sei hier nur auf die klassischen Untersuchungen

[1]) Scaudaliato, Giornale della R. Soc. ed Accad. veterinaria 58, No. 35, 1905, zitiert nach Weichardts Jahresbericht 1, 173.

[2]) Ehrlich, Toxin und Antitoxin. Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 33 u. 34.

Ransoms[1]) über das „Saponin und sein Gegengift" hingewiesen, bei welchen aus der Tatsache, daß das Cholesterin als das hemmende Prinzip des Serums bei der Saponinhämolyse erkannt worden war, mit großer Wahrscheinlichkeit geschlossen werden konnte, daß das in Rede stehende Gift sich am Lipoidanteile der Erythrocyten verankere. Die nach dem Vorbilde der **Ransom**schen Versuche für eine große Reihe anderer Blutkörperchengifte ausgeführten Versuche haben unsere Vorstellungen über den Vorgang der Hämolyse zweifellos ganz wesentlich geklärt.

Über die Natur der die Gallenhämolyse hemmenden Stoffe des Serums liegen bisher meines Wissens weder experimentelle Untersuchungen noch auch Vermutungen vor; **Lüdke**, der diese Frage nicht in den Kreis seiner Untersuchungen gezogen hatte, erwähnt nur, daß die antilytische Wirkung des Serums durch ½—1stündiges Erhitzen auf 55—60° C keine Einbuße erleide. Damit war aber für die Kenntnis der fraglichen Hemmungssubstanzen nichts gewonnen und auch keine Handhabe für die Bearbeitung des Themas gegeben.

Den Ausgangspunkt für die hier mitgeteilten Untersuchungen bildete die Vermutung, daß die hämolytische Wirkung der Gallensalze vielleicht in irgend einer Beziehung zu ihrem Lösungsvermögen gegen Fettsäuren und lipoide Stoffe stehen könnte. Speziell die allgemein bekannte Tatsache, daß das völlig wasserunlösliche Cholesterin, welches ja einen so wichtigen Bestandteil der Erythrocytenmembran darstellt[2]), in Solutionen von gallensauren Salzen in Lösung geht, läßt unschwer den Gedanken aufkommen, daß vielleicht hierin die Ursache für die hämolysierende Cholatwirkung einerseits und für die hemmende Fähigkeit des Serums andererseits zu suchen sei, daß also Verhältnisse obwalten, welche mit den für die Saponinhämolyse geltenden einigermaßen verwandt wären. Von diesem Gesichtspunkte aus wurde zunächst der Einfluß des Cholesterins auf die Gallenhämolyse geprüft.

Mit Rücksicht auf die wechselnde Beschaffenheit der Tiergalle gelangten für fast alle Versuche Lösungen gallensaurer Salze

---

[1]) Ransom, Deutsche med. Wochenschr. **1901**, 194.

[2]) Vgl. O. Pascucci, Die Zusammensetzung des Blutscheibenstromas und die Hämolyse. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **6**, 543ff., 1905.

zur Verwendung, die ja bekanntlich, wie schon v. Dusch[1]) festgestellt hatte, das alleinige blutkörperchenlösende Prinzip der Galle darstellen. Das ausschließlich benützte Präparat war das Natrium taurocholicum der Firma E. Merck.

Zur Feststellung des Einflusses des Cholesterins wurde die von Ransom für das Saponin angegebene Methode verwendet, indem das in Äther gelöste Cholesterin (ebenfalls von E. Merck) den Lösungen der gallensauren Salze zugesetzt wurde und nach kräftigem Durchschütteln 12 Stunden lang im Brutschrank bei 37° C verblieb, worauf dann der Äther im Vakuum abgedampft wurde. Bei einer Reihe anderer zum selben Zwecke unternommener Versuche machte ich mir das Lösungsvermögen der Galle gegen Cholesterin zunutze, indem ich dieses in wechselnden Mengen direkt in die Gallenlösung eintrug. Das Ergebnis aller Versuche war insofern ein übereinstimmendes, als die erwartete Hämolysehemmung nie eintrat. Bei einigen Versuchen schien sogar eine Förderung des hämolytischen Prozesses unverkennbar. Jedoch dürfte diese Erscheinung nicht mit einer charakteristischen Eigentümlichkeit des Cholesterins zusammenhängen, sondern vielmehr durch später zu erörternde Beziehungen der Gallenhämolyse zum Kohlensäuregehalt der Flüssigkeit bedingt sein.

Das negative Resultat der Cholesterinversuche veranlaßte die Anstellung analoger Experimente mit dem ebenfalls lipoiden Lecithin. Zur Verwendung gelangten Präparate der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation zu Berlin und der Firma E. Merck. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß eine gewisse, gewogene Lecithinmenge mit der Lösung von Natrium taurocholicum in der Reibschale verrieben und dann das mehr oder weniger milchigtrübe Gemenge durch Glaswolle filtriert wurde.

Solche Gemische boten nun die auffallende Erscheinung dar, daß bei ihrer Anwendung die Hämolyse im Vergleiche zu den nicht mit Lecithin versehenen Kontrollröhrchen sehr verspätet eintrat (vgl. Tabelle I).

---

[1]) v. Dusch, Untersuchungen und Experimente als Beitrag zur Pathogenese des Ikterus und der akuten gelben Leberatrophie. Habilitationsschrift. Leipzig 1854 (zitiert nach Lüdke).

Tabelle I.

Jedes Röhrchen enthielt 2 ccm einer 5prozentigen Meerschweinchenblutkörperchen-Suspension.

Gehalt der verwendeten Lösung an taurocholsaurem Natron in Grammen	Lecithinzusatz	Hämolyse
0,04	0	sofort vollkommen.
0,04	+	in 50 Minuten vollkommen.
0,03	0	sofort vollkommen.
0,03	+	in 50 Minuten vollkommen.
0,01	0	in 5 Minuten vollkommen.
0,01	+	in 1 Stunde 30 Min. fast vollkommen.
0,005	0	in 5 Minuten vollkommen.
0,005	+	in 1 Stunde 30 Minuten sehr stark.
0,004	0	in 10 Minuten vollkommen.
0,004	+	in 1 Stunde 30 Minuten schwach.
0,003	0	in 50 Minuten vollkommen.
0,003	+	in 1 Stunde 30 Minuten schwach.
0,002	0	in 50 Minuten stark.
0,002	+	in 1 Stunde 30 Minuten schwach.

Für den in Tabelle I wiedergegebenen Versuch waren 0,3 g Lecithin „Merck“ mit 6 ccm einer 10prozentigen Lösung von taurocholsauren Natrium vermengt worden. Auch durch beträchtliche Vermehrung des Lecithingehaltes ist eine Aufhebung der hämolytischen Wirkung der Gallensäuren nicht zu erzielen. Da bei sehr hohem Lecithingehalte des Gemisches die Beurteilung des Eintrittes und der Intensität der Hämolyse durch die trübe Beschaffenheit des Lecithingallengemenges wesentlich erschwert wird, versuchte ich die trübe Flüssigkeit vom Lecithinüberschusse durch Filtration durch Berkefeldkerzen zu befreien. Durch Kontrolluntersuchungen hatte ich mich vorher davon überzeugt, daß die Gallenlösung an sich bei der Filtration keine Einbuße in bezug auf ihre hämolytische Wirksamkeit erleidet[1]).

Wie aus Tabelle II ersichtlich ist, zeigt auch die auf diese Weise filtrierte, vollkommen klare Lecithingalle das gleiche

[1]) Vgl. Lüdke, a. a. O. S. 456: „Ochsengalle, die durch Silberschmidtsche Tonfilter filtriert war, behielt ebenfalls ihre hämolytische Fähigkeit auf die differentesten Blutkörperchen bei.“

Phänomen der Hämolyseverzögerung, woraus geschlossen werden muß, daß die Verzögerung durch das in der Flüssigkeit gelöste Lecithin bedingt ist.

Tabelle II.

Jedes Röhrchen enthielt 2 ccm einer ca. 5 prozentigen Kaninchenblutkörperchen-Suspension.

Menge der Gallenlösung		Hämolyse
mit Lecithin	ohne Lecithin	
0,5	—	nach 1—2 Minuten vollkommen.
—	0,5	nach 1 Stunde 15 Minuten deutlich.
0,2	—	nach 10 Minuten vollkommen.
—	0,2	nach 1 Stunde 15 Minuten Spürchen.
0,1	—	nach spätestens 1 Stunde 15 Min. vollkommen.
—	0,1	nach 1 Stunde 15 Minuten 0.
0,05	—	nach 1 Stunde 15 Minuten fast vollkommen.
—	0,05	nach 1 Stunde 15 Minuten 0.

Da sich in der Literatur mehrfach die Angabe findet, daß das Lecithin an sich zu den hämolytischen Agenzien zu zählen sei[1]), so lag der Gedanke nahe, die verspätet eintretende Hämolyse auf Kosten des Lecithins zu setzen. In der Tat erwiesen sich nun zwar auch Lecithinemulsionen in physiologischer Kochsalzlösung, die hinsichtlich ihres Lecithingehaltes mit den untersuchten Gallensäure-Lecithingemischen übereinstimmten, als hämolytisch, jedoch stand ihre Wirksamkeit sehr weit hinter der der korrespondierenden Gallensäure-Lecithingemenge zurück; auch trat die Auflösung der roten Blutkörperchen unter der Einwirkung von Lecithin allein erst beträchtlich später ein[2]) (vgl. hierzu Tabelle III). Auch variiert die „Lecithinhämolyse" je nach Provenienz und Alter des Präparates recht bedeutend, so

[1]) Vgl. Landsteiner und v. Eisler, Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., Orig.-Bd. 39, H. 3, 311; H. Sachs, Ergebnisse der allg. Pathol. u. pathol. Anat., XI. Jahrg. (1906), I. Abt., S. 590, Anm. 1.; Kobert, Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen, Stuttgart 1904, 50—51.

[2]) Mehrfach beobachtete ich auch die von H. Sachs (l. c.) notierte Erscheinung, daß die Lecithinhämolyse dem Lecithingehalte der Emulsion einigermaßen verkehrt proportional ist (siehe auch Tabelle III). Sachs erklärt dieses Phänomen durch die Annahme, daß „starke Lecithinemulsionen auch gegen die Hämolyse durch Lecithin allein schützen".

daß sich auf Grund dieser Tatsachen die Vorstellung bilden könnte, daß die „Lecithinhämolyse" nicht dem Lecithin selbst, sondern einem seiner Spaltungsprodukte zuzuschreiben sei.

Tabelle III.

Jedes Röhrchen enthielt 2 ccm einer 5 prozentigen Kaninchenblutkörperchensuspension.

Lecithingallegemisch = 25 ccm 10proz. Lösung von Natrium taurocholicum + 1,53 g Lecithin Merck	**Lecithinemulsion** = 25 ccm physiologischer Kochsalzlösung + 1,53 g Lecithin Merck.	Hämolyse
0,5	—	nach 2 Std. 45 Min. vollkommen.
—	0,5	nach 16 Stunden 0
0,2	—	nach 1 Stunde 15 Min. Spürchen. nach 12 Stunden vollkommen.
—	0,2	nach 16 Stunden wenig.
0,1	—	nach 12 Stunden vollkommen.
—	0,1	nach 16 Stunden sehr deutlich.
0,05	—	nach 12 Stunden vollkommen.
—	0,05	nach 16 Stunden stark.

Auf Grund dieser Erfahrungen scheint es kaum angängig, das Lecithin für die bei Verwendung von Galle-Lecithingemengen verspätet auftretende Hämolyse verantwortlich zu machen. Zur Erklärung der Erscheinung wird man sich vielleicht vorstellen dürfen, daß sich die Gallensäuren mit dem Lecithin zu einer neuen, ebenfalls hämolytischen Substanz vereinigen, daß aber die Reaktionsgeschwindigkeit zwischen diesem neugebildeten „Lecithid" und den Erythrocyten eine geringere ist, als die zwischen den reinen Gallensalzen und den roten Blutzellen. Es sei hier daran erinnert, daß R. Kobert[1]) auch bezüglich des Saponins annimmt, daß es sich mit dem Lecithin chemisch verbinde, ohne daß diese Lecithidbildung mit einer Steigerung der hämolytischen Wirksamkeit einhergehe, wie dies bei den übrigen bisher bekannten Lecithidbildungen in höherem oder geringerem Grade der Fall ist.[2])

---

[1]) R. Kobert, Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen für Naturforscher, Ärzte, Medizinalbeamte. Stuttgart 1904.

[2]) P. Kyes und H. Sachs = Schlangengift, K. Landsteiner und M. v. Eisler = Kieselsäure, Morgenroth und U. Carpi = Bienengift,

In genau der gleichen Weise wie durch Lecithin wird die Gallenhämolyse auch durch Cerebrin (Merck) beeinflußt.[1])

Da sich, wie aus dem bisher Mitgeteilten erhellt, ein normaler Bestandteil des Blutserums, das Lecithin, als eine die Gallenhämolyse hemmende Substanz erwiesen hat, erhebt sich nunmehr die Frage, ob diese Tatsache zur Erklärung der antilytischen Serumfunktion ausreicht oder nicht.

Zur Beantwortung dieser Frage ist eine Vergleichung der Hemmungswirkungen des Serums und des Lecithins notwendig. Bei diesem Vergleiche macht sich sofort ein sehr wesentlicher Unterschied der beiden Hemmungsvorgänge bemerkbar: während sich nämlich bei Zusatz von Serum das Zustandekommen der Gallenhämolyse leicht gänzlich verhindern läßt, besteht der Effekt des Lecithins immer nur in einer Verzögerung, nie aber in einer Aufhebung der Erythrolyse. Wie ausgesprochen auch die Verzögerung des hämolytischen Prozesses sein mag, schließlich tritt doch stets die der verwendeten Gallensalzmenge entsprechende Auflösung auf.

Wenn schon auf Grund dieser Differenz starke Bedenken gegen eine Identifizierung der vom Serum einerseits und vom Lecithin andererseits bewirkten Hemmung entstehen müssen, so werden diese noch erheblich durch Versuche vermehrt, bei welchen der Einfluß von Lecithinemulsionen untersucht wurde, deren Lecithingehalt dem des Serums entsprach[2]) (vgl. Tabelle IV).

U. Friedemann und J. Wohlgemuth = Pankreassaft; hierher gehört vielleicht auch die von Pascucci mitgeteilte Tatsache, daß das agglutinierende Ricin durch Lecithin zu einem Hämolyticum wird. Bezüglich des Befundes von Pascucci wiesen allerdings kürzlich C. Neuberg und E. Rosenberg (Berl. klin. Wochenschr. **1907**, Nr. 2) auf eine andere Erklärungsmöglichkeit hin.

[1]) Das Cerebrin wurde mit der Gallensalzlösung durch 12 Stunden bei Bruttemperatur digeriert und das Gemenge dann entweder nur durch Glaswolle oder durch Berkefeldkerze filtriert. Das verwendete Präparat entspricht, einer brieflichen Mitteilung der Firma E. Merck zufolge, dem von E. Parkus (Journ. f. prakt. Chemie **24**, 310) dargestellten Körper.

[2]) Als normaler Lecithingehalt des Serums wurde 0,17% angenommen. Dieser Wert ergibt sich als Mittelzahl aus zwölf Bestimmungen, die Abderhalden an verschiedenen Tierseris ausgeführt hatte (siehe Zeitschr. f. physiol. Chemie **25**, 67).

Tabelle IV.

Jedes Röhrchen enthielt 2 ccm einer 5 prozentigen Kaninchenblutkörperchen-Suspension.

0,9 proz. Kochsalzlösung	0,17 proz. Lecithinemulsion	Gehalt des Gemisches an Natrium taurocholicum in Gramm	inaktives Rinderserum	Hämolyse		
				nach 2 St. 30 Min.	nach 3 St. 30 Min.	nach 6 St.
—	0,8	—	—	0	sehr deutlich	sehr deutlich
—	0,4	—	—	0	0	0
—	0,2	—	—	0	0	0
—	0,1	—	—	0	0	0
—	0,8	0,003 g	—	stark	sehr stark	vollkommen
—	0,4		—	stark	stark	vollkommen
—	0,2		—	stark	stark	vollkommen
—	0,1		—	stark	stark	vollkommen
—	—	0,003 g	0,8	0	0	0
—	—		0,4	0	0	0
—	—		0,2	0	0	0
—	—		0,1	0	0	0
—	—		0,05	0	0	0
0,8	—	0,003 g	—	sehr stark	sehr stark	vollkommen
0,2	—		—	stark	recht stark	vollkommen

Aus der vorstehenden Tabelle ergibt sich also, daß das Lecithin in der Konzentration, in welcher es im Serum enthalten ist, fast gar keine Hemmung der Cholathämolyse auszuüben vermag.

Nun muß man allerdings auf den Umstand Rücksicht nehmen, daß das Lecithin im Serum in einem anderen physikalischen und chemischen Zustande vorhanden ist, als in der untersuchten 0,17 prozentigen Kochsalzemulsion; darum wird man auch dem in Tabelle IV wiedergegebenen Versuche keine absolute Beweiskraft zuerkennen dürfen.

Soll der strikte Nachweis geliefert werden, daß dem Lecithin bei der Hemmungswirkung des Serums kein Anteil zukommt, so muß es aus dem Serum entfernt werden. Dieses Ziel wurde auf zweifache Weise angestrebt: einmal durch Ausschütteln des Serums mit Äther und dann durch Verdauung des Lecithins mittels Lipase.

Die Ätherextraktion wurde durch den Umstand erheblich erschwert, daß die Lecithin-Eiweißverbindungen, mit deren Anwesenheit im Serum gerechnet werden muß, ihr Lecithin nur

sehr schwer an den Äther abgeben. Es war daher geboten, den Äther durch lange Zeit hindurch auf das Serum einwirken zu lassen. Ich hoffte eine energische Extraktion durch langdauerndes und wiederholtes Schütteln mit heißem Äther zu erreichen. Zu diesem Behufe wurden zu 30 ccm Rinderserum 120 ccm Äther zugesetzt und diese Mischung in einem dickwandigen Schüttelzylinder auf die Dauer von fünfmal 24 Stunden in den auf 37° C temperierten Brutschrank gestellt; täglich kam dann das durch Umwicklung mit Tüchern vor Abkühlung geschützte Gefäß für 1—2 Stunden auf die Schüttelmaschine; nach 5 Tagen wurde der Äther abgegossen und das Serum, das sich in eine zähflüssige, gelatinöse Masse umgewandelt hatte, im Vakuum zur Trockene gebracht. Der gepulverte Trockenrückstand in alkalischer Kochsalzlösung gelöst[1]), gelangte sodann nach vorheriger Neutralisierung zur Untersuchung, deren Ergebnis in Tabelle V zusammengefaßt ist.

Tabelle V.

Jedes Röhrchen enthielt ca. 0,3 ccm einer 1 prozentigen Gallensalzlösung und 2 ccm einer 5 prozentigen Meerschweinchenblutkörperchen-Emulsion.

Vollserum	Mit Äther extrahiertes Serum	0,9 proz. Kochsalzlösung	Hämolyse nach $3^1/_2$ Stunden
0,8	—	—	0
0,6	—	—	0
0,4	—	—	0
0,2	—	—	0
0,1	—	—	Spürchen
—	0,8	—	0
—	0,6	—	0
—	0,4	—	0
—	0,2	—	Spürchen
—	—	0,8	vollkommen

[1]) Ein Teil des Pulvers quoll in der Kochsalzlösung stark auf, ohne jedoch in Lösung zu gehen; von diesem mußte daher abfiltriert werden. Die für den in Tabelle V mitgeteilten Versuch verwendete Flüssigkeit entsprach demzufolge nicht dem Vollserum minus Ätherlöslichem, sondern stand auch in bezug auf seinen Eiweißgehalt dem nativen Serum nach. Die Berücksichtigung dieses Umstandes dürfte für die Beurteilung des Versuchsergebnisses von Belang sein.

Die Hemmungswirkung des Serums blieb demnach trotz der sehr energischen Ätherextraktion beinahe ganz erhalten. Die geringfügige Einbuße an hämolytischer Kraft, die das Serum durch diese Prozedur erlitten hatte, kann leicht durch die Veränderungeines Teiles der Eiweißkörper (vgl. Anm. auf der vorstehenden Seite) erklärt werden.

In gleichem Sinne wie die Ätherextraktion sprachen auch die Versuche, bei welchen das Lecithin durch Spaltung mittels Lipase aus dem Serum entfernt werden sollte. Die theoretische Grundlage für diese Versuchsreihe bildete die kürzlich von Paul Mayer[1]) nachgewiesene Zerlegbarkeit des Lecithins durch das fettspaltende Ferment des Pankreassaftes. Ein Gemenge von 5 ccm Rinder- oder Hammelserum und 1 ccm Steapsinsolution „Grübler" wurde nach 12—24 stündigem Aufenthalt im Thermostaten bei 37° C auf seine hemmende Kraft geprüft. Ein beachtenswerter Unterschied zwischen den der Lipasewirkung durch längere unterworfenen Serumproben und den als Kontrolle verwendeten frisch angelegten (unverdauten) Serum-Steapsingemengen konnte hierbei nicht konstatiert werden. Allerdings soll die Beweiskraft dieser Versuchsreihe nicht allzu hoch angeschlagen werden, da keine sichere Gewähr dafür vorhanden ist, daß in der Tat das angestrebte Ziel, die Aufspaltung des Lecithins, erreicht worden sei. Allerdings ließ sich an Serum-Steapsingemengen, die ungefähr einen Tag lang im Brutschrank gestanden hatten, ein beträchtlicher Säurezuwachs nachweisen[2]), aber ob

---

[1]) Paul Mayer, Diese Zeitschr. 1, H. 1/2, 39—52, 1906. Vgl. auch S. Küttner, Zeitschr. f. physiol. Chemie 50, H. 6, 491ff., 1907.

[2]) Als Beleg hierfür sei folgender Versuch angeführt: 15 ccm steriles, inaktives Hammelserum und 3 ccm Steapsinsolution „Grübler" wurden gemischt und blieben 26 Stunden lang im Brutschrank (= Gemisch A). Als Kontrolle wurde einerseits Hammelserum allein und andererseits Steapsinsolution allein durch dieselbe Zeit im Brutschrank gehalten und erst unmittelbar vor der Titration in den gleichen Mengen (15 ccm Serum und 3 ccm Steapsin) gemischt (= Gemisch B). Sowohl Gemisch A als auch Gemisch B wurde der Kontrolle halber doppelt angelegt. Die Titration mit $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge gegen Phenolphthalein ergab:

für das Gemisch A: 1. Probe: 3,40 ccm $^1/_{10}$ Normallauge,
2. Probe: 3,55 ccm $^1/_{10}$ „

für das Gemisch B: 1. Probe: 2,20 ccm $^1/_{10}$ „
2. Probe: 1,95 ccm $^1/_{10}$ „

Der durchschnittliche Säurezuwachs entspricht demnach 1,4 ccm $^1/_{10}$ Normallauge.

diese gebildete Säure wirklich dem Lecithin entstammt, oder nicht etwa auf Spaltung des im Serum enthaltenen Fettes oder eine andere nicht bekannte Quelle zurückzuführen ist, muß dahingestellt bleiben[1]).

Wie dem auch sei, so sprechen doch alle bisherigen Erfahrungen gegen die Annahme, daß das Lecithin als das antihämolytische Prinzip des normalen Tierserums betrachtet werden dürfe; daß es am Hemmungsvorgange gar nicht beteiligt sei, kann allerdings nicht mit voller Sicherheit behauptet werden.

Jedenfalls mußte der Hauptanteil der Hemmungswirkung einem anderen Bestandteile des Serums zugeschrieben werden. Auf der Suche nach diesem schien es das nächstliegende, die Serumeiweißkörper selbst in bezug auf ihr Verhältnis zur Gallenhämolyse zu prüfen. Besonders leiteten die Erfahrungen v. Eislers[2]) betreffs der Hemmungswirkung des Serumglobulins gegen Tetanolysin und Staphylolysin, sowie die Angabe von L. v. Liebermann[3]) über den schützenden Einfluß des Serumalbumins gegenüber den durch Seifen hervorgerufenen haemolytischen Prozessen auf diesen Weg.

Für diese Untersuchungen wurde das ausschließlich zur Verwendung gelangende Rinderserum der fraktionierten Fällung durch Ammoniumsulfat unterworfen und die am Filter gesammelten und scharf abgepreßten Eiweißniederschläge in einer der Ausgangsmenge des benützten Serums entsprechenden Quantität physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst.

Hierbei ergab sich, daß alle drei dargestellten Fraktionen, die Euglobulin-, Pseudoglobulin- und Albuminfraktion, bedeutende Hemmungswirkung entfalten und schon in geringen Mengen den durch die Gallensäuren hervorgerufenen hämolytischen Prozeß gänzlich aufzuheben vermögen.

Im Bereiche dieser bei Untersuchung der Eiweißkörper sich ergebenden Tatsachen fände aber noch immer der Einwurf

---

[1]) Vielleicht kann auch in den Fettsäureestern des Cholesterins eine Säurequelle gelegen sein.

[2]) v. Eisler, Über die Bedeutung der Lipoide für die antihämolytische Wirkung des Serums. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 3, H. 2, 296—313, 1906.

[3]) L. v. Liebermann, Über Hämagglutination und Hämolyse. Diese Zeitschr. 4, H. 1, 25—39, 1907.

Platz, daß die gefundene Hemmung nicht den Eiweißkörpern selbst eigen sei, sondern einer fremden, den einzelnen Fraktionen nur zufällig anhaftenden, beim Fällungsvorgange mechanisch mitgerissenen Substanz zuzuschreiben sei.

Diesem Einwande zu begegnen, wurden sowohl das Serum als Ganzes, als auch die einzelnen Fraktionen proteolytischen Verdauungsprozessen unterworfen, wozu Trypsin und Pepsin „Grübler" sowie Mercksches Papayotin verwendet wurde. Mit Rücksicht auf die schwere Verdaulichkeit nativer Eiweißkörper gelangten stets große Fermentmengen zur Anwendung. Es zeigte sich, daß unter dem Einflusse eiweißlösender Enzyme das Serum selbst und die daraus durch Salzfällung gewonnenen Fraktionen in wenigen Stunden ihrer Hemmungswirkung vollkommen beraubt werden, wodurch die ausschlaggebende Bedeutung der Eiweißkörper für das Hemmungsphänomen mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit erwiesen zu sein scheint.

Zusammenfassung.

1. Cholesterin beeinflußt die hämolytische Wirkung der gallensauren Salze nicht.

2. Lecithin und Cerebrin bewirken eine beträchtliche Verzögerung des durch die Galle hervorgerufenen hämolytischen Prozesses, nie aber eine völlige Aufhebung desselben; in der Konzentration, in welcher das Lecithin im Blutserum enthalten ist, ist es der Gallenhämolyse gegenüber fast wirkungslos.

3. Die hier untersuchte Hemmungswirkung des normalen Tierserums ist zum größten Teile (oder vielleicht ausschließlich) den Serumeiweißkörpern zuzuschreiben.

Beiträge zur Reindarstellung der Antitoxine.

Teil I. Ein neues Verfahren zur Reinigung der Heilsera, speziell des Diphtherie-Serums.

Von

Dr. J. Brunner und Dr. S. N. Pinkus.

(Aus dem Chemisch-Pathologischen Laboratorium der Krankenhäuser zu Warschau.)

(Eingegangen am 14. Juli 1907.)

Wie stark jede einzelne Disziplin durch die Entwicklung der benachbarten beeinflußt und durch deren Theorien gefärbt wird, zeigt die jetzige Entwicklung der Toxin- und Antitoxinfrage zur Genüge. Als seinerzeit Nägeli die Fermente als an ein indifferentes materielles Substrat gebundene Kraftwirkungen ansprach, standen derartige Ansichten der exakten Biologie noch fern. Wenn jetzt Fermentwirkungen physikalisch und mathematisch behandelt werden und leitende Chemiker und Physiker sich an der Untersuchung biologischer Fragen beteiligen, so hat dies längst nichts Befremdendes mehr an sich, übt jedoch auf die Denkart des Spezialisten einen bestimmenden Druck aus. So wird gerade auf dem Gebiete der Ferment- und Immunisationsforschung dem rein chemisch-biologischen Forschungsgange, zu dem sie sich gerade jetzt neigt, von sehr maßgebender Seite ein Nihilismus entgegengesetzt, der bei den Führern selbstredend sehr beachtenswert, bei den Schülern jedoch sehr verwirrend ist. Sagt doch selbst Behring[1]): „Ich habe meine Zeit nicht verloren mit fruchtlosen Versuchen zur Reindarstellung von Antikörpern. Die Forderung, aus antitoxischen Proteinkörpern, speziell aus dem antitoxischen Serumeiweiß, ein eiweißfreies Antitoxin in reinem Zustande zu gewinnen, muß für mich ebenso vernunftwidrig sein

---

[1]) Behrings-Werke, Berichte **1901**, H. 1.

wie die Forderung der Reingewinnung eines eisenfreien Magnetins aus Eisenmagneten, die wir ja gleichfalls nicht als chemische, sondern als dissoziierte polarisierte Körper betrachten müssen." Um in derselben Vergleichslinie zu bleiben, möchten wir nur andeuten, daß sich vorläufig die antitoxischen Sera wohl mit magnetischen Erzen, nicht aber mit reinem Eisen vergleichen ließen, und daß bei genauerer Beobachtung der relativ reineren Antitoxine sich doch schon jetzt Erscheinungen wahrnehmen lassen, die eher für die chemische Individualität derselben sprechen. Es hieße zu weit gehen, wollte man aus den vorliegenden Beobachtungen, z. B. über die komplementartige Wirkung der Lecithine und Lipoide und aus der komplementableitenden Wirkung des Cholesterins[1]), schon jetzt über diese Frage den Stab brechen. Es eröffnen jedoch schon diese Tatsachen in Verbindung mit dem hier mitzuteilenden Ausblicke, die ein energisches Weiterarbeiten von rein biochemischen Gesichtspunkten aus erwünscht machen.

Es darf wohl als feststehend angenommen werden, daß in den antitoxischen Seris derjenige Teil, der durch genaue Halbsättigung mit $(NH_4)_2SO_4$ und genaue Absättigung mit $MgSO_4$ gefällt wird, das gesamte Antitoxin enthält[2]). Pick hat diese Fällungsgrenzen enger gezogen; nach seinen Angaben beginnt das Antitoxin aus dem Serum auszufallen, wenn demselben 36% gesättigter Ammonium-Sulfatlösung zugesetzt wird; es fallen dann bei einem Gehalt von 38% der gesättigten Lösung $1/3$ bis $1/4$, bei 42% $5/6$ und 46% $6/6$ des gesamten Antitoxins aus. So einfach, wie sie in der Pickschen Schrift erscheinen, sind die Verhältnisse denn doch nicht.

Bei der Durcharbeitung der Pickschen Versuche war uns schon früh aufgefallen, in wie weitem Grade die Fällungsgrenzen mit Ammoniumsulfat durch die relative Konzentration des gelösten Eiweißes beeinflußt werden. Schon W. Popplewell-Bloxham[3]) macht darauf aufmerksam, daß bei starken Verdünnungen der Eiweißlösungen die Menge des zur vollkommenen

---

[1]) Vgl. Bang, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol., **1906**, Juni.

[2]) Die gesamte Literatur des Gegenstandes ist bei Oppenheimer. Toxine und Antitoxine 1904, in mustergültiger Weise zusammengestellt.

[3]) Proceedings Physiol. Soc. London, **1901**, 16. März.

Fällung nötigen Ammonsulfats weit über das zur einfachen Absättigung des Wassers Erforderliche herausgeht. Bei näherer Nachprüfung ergab sich denn auch (speziell für krystallisiertes Ovalbumin), daß die zur Fällung des Eiweißes mit Ammoniumsulfat erforderliche Menge mit der Verdünnung der Lösung nicht geradlinig, sondern in einer Kurve ansteigt, die mehrere sehr interessante Knicke enthält[1]).

Da bekanntlich bei Zusatz von Ammoniumsulfat aus nativem Eiweiß Ammoniak frei wird, eine Einwirkung, die in konzentrierten Eiweißlösungen selbst nach sehr lange andauernder energischer Dialyse noch immer stattfindet, falls die Lösung nicht direkt sauer reagiert, so wurde zur eingehenderen Untersuchung von dem einen von uns eine Methode ausgearbeitet, die eine geringere chemische Beeinflussung des Proteinmoleküls versprach. Bekanntlich erreicht das Na_2SO_4 bei 34° sein Maximum der Löslichkeit von 55%, wogegen es bei 18° nur zu 16,8, bei 6° zu 7 und bei 0° zu 5% in Wasser löslich ist. Das Salz ist überdies bei niederen Konzentrationen physiologisch inert. Benutzt man das wasserfreie Salz und fällt bei ca. 30—32°, so zeigt das Natriumsulfat bei gleichen Konzentrationen des Eiweißes und in molekularen Verhältnissen annähernd dasselbe Fällungsvermögen wie Ammoniumsulfat[2]). Filtriert man eine solche Eiweißfällung und läßt sie auf dem Filter stehen, so bildet sich bei niederen Temperaturen 7—10% wasserhaltiges Natriumsulfat, das sich als schwer löslich ausscheidet, wobei das Eiweiß sich in dem nunmehr salzarmen Wasser löst. Die Lösung kann dann nach eventuellem Ausfrieren weiterer Mengen des Salzes direkt zu physiologischen Versuchen benutzt werden. Es kann dieses Verfahren auch zur beliebigen Konzentration eiweißhaltiger und sonstiger Lösungen benutzt werden, indem man warm die erforderlichen Mengen wasserfreien Natriumsulfats einträgt und dann auskrystallisieren

---

[1]) Die langwierigen Vorarbeiten zur Erforschung dieser Verhältnisse sind unveröffentlicht und wird die Arbeit voraussichtlich nicht fortgesetzt werden.

[2]) Vergleicht man die das Fällungsvermögen des Ammonium- und Natriumsulfats angebenden Kurven, so ergibt sich, daß die des Natriumsulfats viel weniger Knicke enthält als die des ersteren und auch viel flacher verläuft.

läßt. Selbstverständlich kann das wasserfreie Natriumsulfat auch zur Nachsättigung nach Magnesiumsulfat benutzt werden; da das Salz auch billiger und im technischen Zustande reiner ist wie das Ammoniumsulfat und sich viel leichter wiedergewinnen und regenerieren läßt wie jenes, so empfiehlt sich seine Benutzung auch von diesen Standpunkten aus. Es übt überdies auf die komplexeren Proteine nicht den koagulierenden Einfluß aus, wie er bei Anwendung anderer Salze so häufig beobachtet wird. Selbst die empfindlicheren Fermente und Toxine werden durch Natriumsulfat in ihren physiologischen Eigenschaften und augenscheinlich auch in ihren chemischen durchaus nicht verändert.

Es sei noch anzudeuten, daß sich Organ- und Bakterienmassen sowie andere eiweißhaltige flüssige oder feste Substanzen längere Zeit unverändert erhalten lassen, wenn man zu der auf ca. 35° angewärmten Substanz so viel des wasserfreien Salzes zufügt, als zur nachherigen Bildung von Glaubersalz genügt, bei Zimmertemperatur erkalten läßt und die harte Masse sorgfältig zerreibt[1]). Fügt man zu viel des wasserfreien Salzes hinzu, so koagulieren sich die Substanzen in verhältnismäßig kurzer Zeit, bei zu wenig halten sie sich nicht so gut.

Zur Illustration des Gesagten seien die folgenden Daten angeführt, aus denen die zur Fällung der einzelnen Blutbestandteile nötigen Mengen von wasserfreiem Natriumsulfat zu ersehen sind.

1. Ochsenblut, Verdünnung 1 : 4.
   Globuline vollkommen gefällt durch . . . 20%,
   Hämoglobin durch . . . . 28,8%[2]),
   vollkommene Fällung der gesamten Proteine 35%.
2. Plasma aus Ochsenblut verdünnt 1 : 4.
   Fibrinogen, gefällt mit 14%,
   Globulin 18,8%,
   Albumin . . . . 35%.
3. Pferdeserum, Verdünnung 1 : 5.
   Erste Trübung 8,8%,
   vollkommene Fällung des Fibrinogen . . . 14%,

[1]) Eine Mitteilung über die Anwendung dieser Methode zur Gewinnung von Endtoxinen soll im Teil II gegeben werden.

[2]) Es lassen sich daher selbst aus hämoglobinhaltigem Serum ganz farblose Globulinlösungen erhalten.

vollkommene Fällung des Globulins . . . 18,8%,
„ „ der Albumine . . . 37,5%.

4. Pferdeserum, Verdünnung 1 : 10.
Fällung der Globuline 20%,
„ „ Albumine . . . . 39%.

Wegen weiterer Einzelheiten wird auf das Original verwiesen[1]).

Die angegebenen Zahlen geben die Grenze an, an der die gesamten Globuline resp. Albumine gefällt werden; es liegt jedoch zwischen den einzelnen Proteinen wie bei der Fällung mit Ammoniumsulfat eine Zone, innerhalb derer Zusatz von kleinen Mengen keine weitere Ausfällung des schweren fällbaren Proteins bedingt. Fällt man z. B. Globulin mit 20% wasserfreien Natriumsulfats, so beginnt die Fällung der Albumine erst gegen 27,5% und ist erst nach Zusatz von 38% des Salzes beendigt. Die Niederschläge bilden sich bei 30—35° sehr schnell und setzen sich sehr gut ab. Was die Trennbarkeit der Euglobuline und Pseudoglobulinfraktion vermittels dieses Salzes anbetrifft, so verhält sich das Natriumsulfat auch hier annähernd ebenso wie das Ammoniumsulfat.

An der Hand dieser Methode haben wir nun eine genaue Untersuchung angestrebt, die uns vor allem darüber Aufschluß geben sollte, in welchem Teil des diphtheritischen Heilserums das Antitoxin, oder richtiger die Antitoxine enthalten waren. Die im Februar 1906 begonnenen Arbeiten waren bereits im April desselben Jahres beendigt, jedoch schien uns bei der Wichtigkeit des Gegenstandes eine möglichst vielseitige Durchprüfung erwünscht, sowohl in der wissenschaftlichen, wie auch in der praktischen Richtung. Das Material zu unseren Untersuchungen verdanken wir Herrn Dr. W. Palmirski, dem Leiter des Bakteriologischen Instituts in Warschau, und Herrn Dr. E. M. Houghton, dem Leiter der Bakteriologischen Abteilung der Fabrik Parke, Davis & Co., Detroit, denen wir hiermit unseren Dank ausdrücken möchten.

Bei der Untersuchung der Serumfraktionen nach erfolgter Fällung mit Natriumsulfat bedienten wir uns zweier Methoden.

[1]) S. N. Pinkus, On the precipitation of proteins with anhydrous Sulphate of Sodium. Journal of Physiology 27, 57, 1901.

Die eine beruhte darauf, daß nach erfolgter fraktionierter Fällung der antitoxische Wert des jeweiligen Filtrats bestimmt wurde, die andere, daß man den antitoxischen Wert der sorgfältig ausgewaschenen und dann gelösten Fraktion bestimmte. Die erstere ist zweifellos die genauere, da man selbst bei sorgfältigster Arbeit nur bei Anwendung größerer Mengen Materials an eine genau quantitative Bemessung des antitoxischen Gesamtwertes denken kann, den ein gegebener Niederschlag enthält. Die antitoxischen Werte wurden zuerst nach der früheren Ehrlichschen Methode, später nach der modernen desselben Verfassers ausgeführt. So genau auch letztere ist, scheint uns die erstere wegen ihrer größeren Einfachheit und Schnelligkeit der erhaltenen Resultate doch noch immer, zumal bei rein orientierender Arbeit, empfehlenswert. Die Wertung wurde unter Benutzung des Testserums des Frankfurter Instituts durchgeführt. Die Anzahl der von uns durchgeführten Versuche bietet eine genügende Bürgschaft für die Verläßlichkeit unserer Resultate.

Obgleich das technische wasserfreie Natriumsulat genügend rein ist, bedienten wir uns doch für unsere Arbeiten des durch Umkrystallisierung von Glaubersalz gereinigten und frisch geglühten wasserfreien Natriumsulfats. Als Material zu unseren Versuchen wurde einerseits Serum benutzt, andererseits Plasma, welches wir durch Vermischung des frischgezogenen Blutes mit einem gleichen Volum einer 15prozentigen Natriumsulfatlösung erhielten, oder Oxalatplasma. Vermittels der ersteren Methode erzielen wir ein Salzplasma, das, wie das Oxalatplasma, das gesamte Antitoxin des Serums enthält. Das gefällte Fibrinogen reißt hierbei sämtliche zelligen Bestandteile des Blutes mit sich auf den Boden, so daß das überstehende Salzplasma gleich abgehebert werden kann. Eine Hämolyse tritt dabei nie ein, da ja bekanntlich das Natriumsulfat die Stromata der Blutkörperchen schont. Freilich setzt sich das Oxalatplasma besser ab und läßt sich schneller abhebern, es muß jedoch dann die Fibrinogenfraktion gesondert gefällt werden. Indem wir uns die Anführung unserer Protokolle vorbehalten, begnügen wir uns hier mit der Anführung der Ergebnisse unserer zahlreichen Versuche.

Es wurde vor allem festgestellt, daß das Blutserum und das Plasma in 1 ccm dieselbe Anzahl antitoxischer Einheiten enthalten.

Bei der fraktionierten Fällung des Blutserums oder des Plasmas, mit 1—2 Teilen physiologischer Salzlösung verdünnt, mit ansteigenden Quantitäten Natriumsulfat, erhielten wir die folgenden Resultate:

1. Der durch 5% im Plasma erzeugte Niederschlag (im Serum erzeugt diese Menge keine Fällung) enthält keine Spur Antitoxin. Letzteres geht vollwertig in das Filtrat über.

2. Die Fraktion zwischen 7½ und 9% enthält manchmal ganz geringe Mengen von Antitoxin, zumeist jedoch gar keine.

3. Die Fraktion, 9—12% Natriumsulfat, enthält 50% Antitoxin.

4. Das Filtrat von der Fällung des Plasmas oder des Serums mit 15% Natriumsulfat enthält gegen 30% Antitoxin.

5. Das Filtrat nach Fällung des Plasmas oder des Serums mit 18% Natriumsulfat enthält weniger als 20% Antitoxin.

6. Das Filtrat von der Fällung des Plasmas oder Serums mit 20—22% Natriumsulfat enthält wenig (1—2% des gesamten), gewöhnlich aber gar kein Antitoxin.

Experimenteller Teil.

Da die beschriebene Methode, obwohl bei genügender Übung sehr einfach und sicher, doch die Einhaltung bestimmter Vorsichtsmaßregeln erfordert, so seien dieselben hier in kurzem berücksichtigt.

Es ist vor allem im Auge zu behalten, daß der Verlauf der Fällung ganz von den physikalischen Eigenschaften des Natriumsulfats abhängt. Wie erwähnt, hat das Natriumsulfat ein Maximum seiner Löslichkeit bei 33°. Bei Zimmertemperatur scheidet es sich mit 10, bei niedrigerer mit 7% Wasser aus. Es ist daher die Eigenschaft des Natriumsulfats, sich beim Erkalten seiner Lösungen sehr schnell auszuscheiden, stets zu berücksichtigen; sämtliche Gefäße sollten warm gehalten werden, da sonst bei niederer Temperatur durch Ausscheidung von Krystallen die Lösungen salzärmer werden, und sich dann die Fällungen zum geringeren oder größeren Teil lösen.

Von dieser Eigenschaft machten wir denn auch Gebrauch, um unsere Antitoxinfällungen zu konzentrieren. Dieselben werden auf dem Filter in einen Eisschrank bei etwa 6° gebracht und

ein Krystall Glaubersalz in den dicken Niederschlag gesteckt. In kurzer Zeit erfolgt eine Abscheidung der Glaubersalzkrystalle auf dem Filter, und das sich nunmehr in der salzärmeren Flüssigkeit lösende Eiweiß fließt in ein darunter stehendes Gefäß ab[1]).

Protokoll.

2. Januar 1906.

2 Uhr nachmittags wurden 125 ccm Diphtherieheilserum der Firma Parke, Davis & Co. (Nr. 649a), enthaltend 250 I. E. mit 125 ccm Wasser verdünnt, auf 32° erwärmt und mit 50 g wasserfreiem Natriumsulfats vermischt. Das Salz löst sich bei dieser Temperatur sehr leicht. Es wäre dagegen durchaus falsch, das Salz erst einzutragen und die Lösung dann anzuwärmen, da sich das Salz zusammenballt und sich dann nur schwierig löst. Die Menge der erhaltenen Flüssigkeit betrug 260 ccm.

Das Kölbchen wurde in einen Brutschrank, Innentemperatur 32°, gebracht (es sei gleich hier bemerkt, daß bei dieser Konzentration das Natriumsulfat die Entwicklung bakterieller und anderer Keime verhindert). Am nächsten Tag früh wurde der gut abgesetzte Niederschlag abfiltriert, und zwar im Thermostaten, da es bei Zimmertemperatur zu leicht zur Abscheidung von Natriumsulfatkrystallen kommt, was die bereits angedeutete Folge, die Auflösung des Proteinniederschlages, nach sich zieht. Es wurde auf einem Scheibenfilter in einem Trichter mit eingeschliffenem Glashahn filtriert. Nachmittags wurden 194 ccm des abgelaufenen Filtrats beiseite gestellt und der Niederschlag auf dem Filter sorgfältig mit kleinen Portionen einer 20 prozentigen auf 32° erwärmten Lösung von Natriumsulfat gewaschen. Es wurden 100 ccm einer solchen Lösung angewandt.

Abends waren 118 ccm Filtrat abgelaufen und der noch immer feuchte Niederschlag schied kein Filtrat mehr ab. *Es ist notwendig, diesen Zeitpunkt möglichst genau wahrzunehmen, da sonst der Niederschlag leicht eintrocknet und sich dann nur mit Schwierigkeit löst.*

---

[1]) Bei schärferem Abkühlen scheiden sich die niedrigeren Hydratformen des Na_2SO_4 in feinen verfilzten Nädelchen ab, die große Mengen der Flüssigkeit zurückhalten.

Es wurde filtriert: 260 ccm Flüssigkeit und 100 ccm Waschflüssigkeit, zusammen 360 ccm. Das Filtrat enthielt 312 ccm, es waren daher 48 ccm auf dem Filter als Niederschlag zurückgeblieben.

Der Niederschlag wurde in einen Eisschrank gebracht (Temperatur 6° C) und einige Krystalle Glaubersalz eingelegt. Die so angeregte Krystallbildung entwickelt sich in kurzer Zeit, worauf das gelöste Protein in dicken Tropfen abzufließen beginnt. Am Morgen des nächsten Tages hatten sich 26 ccm einer leicht opalescenten dicken Flüssigkeit abgeschieden (Lösung A).

Die auf dem Filter gebliebenen Krystalle wurden nach Aufguß von 60 ccm kaltem Wasser bis zum nächsten Tag in den Eisschrank gestellt. Nach Ablassen der Flüssigkeit wurden 65 ccm (Lösung B) erhalten.

Die einzelnen Lösungen wurden mittels eines Diphtherietoxins der Firma Parke, Davis & Co. untersucht. Die Toxizität L_t wurde gegen Frankfurter Testserum von Ehrlich auf 0,320 ermittelt.

Filtrat I enthielt 4 I. E. in einem Kubikzentimeter.
Flüssigkeit A. 725/750 I. E., daher gegen 735 I. E.
Waschflüssigkeit B. 150 I. E.

Die angewandten 125 ccm Serum von 250 I. E. enthielten 31 250 I. E.

Es wurde erhalten 26 ccm zu 735 I. E. = 19110 I. E.,
65 ccm zu 150 = 9750 I. E.,
zusammen 28 860 I. E. Verlust 7,7%.

Der Gehalt an Eiweiß wurde nach Kjeldahl bestimmt.

Das Serum (250 I. E.) enthält 15,932 mg N = 0,09956 g Eiweiß pro 1 ccm. Daher sind 1000 I. E. in 0,39824 g Protein enthalten.

Lösung A (735 I. E.) enthält 22,4 mg N = 0,1400 g Eiweiß.
1000 I. E. in 0,1904 Eiweiß.
Lösung B 1 ccm (150 I. E.) enthält 5,25 mg N = 0,0328.
1000 I. E. in 0,2187 Eiweiß.

Wie aus dieser Zusammenstellung ersichtlich, erhält man vermittels dieser Methode ein stärkeres Antitoxin bei geringerem Eiweißgehalt.

Die folgenden Angaben ergeben, wie weit man die Anreicherung an Antitoxin durch einmalige Manipulation zu treiben vermag.

I. Blut, Pferd Nr. 37, 15. März 1906. Serum und Plasma 650 I. E. 250 ccm Blut ergaben 56 ccm Antitoxin von 1200—1500 I. E. (alte Ehrlichsche Methode).

II. Pferd Nr. 42, 25. März 1906. Serum und Plasma 225 I. E. Aus 200 ccm Plasma wurden 50 ccm Antitoxin von 700 I. E. erhalten (alte Methode).

III. Serie V, 4. Februar 1906. Serum und Plasma 175 I. E. 100 ccm Plasma ergaben 20 ccm Antitoxin von 800 I. E. (alte Testmethode).

IV. Serum 6498a, Parke, Davis & Co., 250 I. E. 50 ccm Antitoxin ergaben 17 ccm Antitoxin von 650 I. E. (neue Testmethode).

V. Serum 6498a, Parke, Davis & Co., 250 I. E. 125 ccm Serum ergaben 26 ccm von 735 I. E. (neue Testmethode).

Das konzentrierte Antitoxin stellt eine farblose klare, nur leicht opalescente Flüssigkeit dar; ihre Haltbarkeit ist sehr beträchtlich, wenigstens zeigte keine von den Proben auch nach 4 Monaten irgend welche Abschwächung. Die Flüssigkeit enthält gegen 6% Natriumsulfat, kann daher ohne weiteres injiziert werden, falls man es nicht vorzieht, sie durch Dialyse zu entsalzen. Von klinischen Versuchen mußte abgesehen werden, da uns unsere beschränkten Laboratoriumsmittel keine genügende Garantie für Asepsis gaben.

Theoretisches.

Bei den Versuchen, eine an Antitoxin möglichst reiche Flüssigkeit zu erhalten, stellte es sich bald heraus, daß sich Sera höchster Konzentration unserem Fällungsmittel gegenüber anders verhielten als Sera geringer Wertigkeit. Während nämlich bei einem Serum, das 175—250 I. E. enthält, die Antitoxine schon durch 18% Natriumsulfat ausgefällt werden, enthält das Filtrat von einer Fällung eines Serums von 1000 I. E. mit 22% Natriumsulfat noch immer nachweisbare Mengen Antitoxin. Nun wissen wir aus früheren Versuchen mit normalen Sera, daß die Globuline

bei fünffacher Verdünnung des Serums mit 18,8, bei zehnfacher mit 20% Natriumsulphat ausgefällt werden. Es ergibt sich schon daraus, daß das Antitoxin des Heilserums nicht ganz dieselben Fällungsgrenzen besitzt wie irgend eins der Globuline des Normalserums. Es gibt diese Tatsache Anlaß zu sehr gewichtigen Bedenken gegen eine Annahme der Einheitlichkeit der Antitoxine. Scheint es auch mit großer Wahrscheinlichkeit nachgewiesen zu sein, daß die antitoxischen Sera mehr Globulin enthalten wie die normalen, so sind die Unterschiede doch nicht genügend groß, um das beschriebene Verhalten zu erklären. Man müßte eigentlich annehmen, daß, wenn das Antitoxin in allen Serasorten dieselbe Substanz wäre, bei den geringwertigen mehr, und nicht weniger des Fällungsmittels angewandt werden müßte, als bei den höherwertigen. Es liegt selbstredend kein Grund vor, für die Antitoxinbereitung dieselben Stellen des Organismus verantwortlich zu machen. Man wird sich vielleicht auch mit der Zeit zu der Vorstellung neigen müssen, daß die spezifisch haptophoren Gruppen der Antitoxine an Eiweißkomplexen verschiedenster Struktur sitzen können. — Es könnte möglich sein, daß der Organismus sein Antitoxin bis zu einem gewissen Konzentrationspunkt in gewissen Organen darstellt, und daß weitere antitoxinbildende Reize andere Stellen des Organismus befallen. Wie dem auch sei, es ergibt sich in unserer Methode, und voraussichtlich auch in der Zusammenstellung ihrer Resultate mit den bei Verwendung der Ammonsulfate erhaltenen ein neues Moment zur Bemessung und Beurteilung der einschlägigen biologischen und chemischen Momente. Ob es sich dann herausstellt, daß die antitoxischen Eigenschaften an genuines Proteid oder an andere, etwa an lipoide Körper gebunden sind, die ihrerseits gewissen Serumbestandteilen anhaften und deren Eigenschaften verändern und wie dann die inhärenten Eigenschaften der betreffenden Substanzen zu deuten sind, erscheint uns gleichgültig. Vorläufig geben wir eine neue Möglichkeit, tiefer in den Chemismus der Antitoxine einzudringen.

Nach Ausschaltung der Albumine ergibt sich von selbst das weitere Problem einer näheren Fraktionierung des Globulinteiles. Die Mitteilungen hierüber behalten wir uns bis auf weiteres vor, möchten jedoch an dieser Stelle gleich andeuten, daß bei sorgfältigerer Untersuchung sich die Fällungsgrenzen von Fall

zu Fall ändern, wie dies bis zu einem gewissen Grade schon von Pick, Porges und Spiro für die Ammonsulfatmethode festgestellt worden ist, und daß die Globuline auch hier ihre Proteusnatur nicht verleugnen, indem sie von Fall zu Fall variierende Fällungsgrenzen zeigen. Es dürften hier die anderen Fällungsmethoden eingreifen; es ist ja möglich, daß, so wie sich bei den besser definierbaren chemischen Verbindungen gewisse Salze, so auch hier gewisse Salzverbindungen der Fraktionierung bessere Möglichkeiten darbieten.

Die seinerzeit ziemlich stark vertretene Ansicht, daß das Antitoxin nach Art der Fermente durch die ausfallenden Proteine mitgerissen würde, dürfte wohl jetzt verlassen sein. Hatten doch schon Freund und Sternberg nachgewiesen, daß es möglich ist, mit Kali-Alaun das gesamte Albumin auszufällen, ohne daß Antitoxin mitfällt[1]). Es lassen sich auch mit Ammoniumsulfat und Natriumsulfat (9%) in niederwertigem antitoxischen Plasma dicke Niederschläge erzeugen, ohne daß auch nur eine Spur Antitoxin mitfällt.

Praktisches.

Die Vorteile, die durch Verwendung eiweißärmerer hochwertiger Antitoxinlösungen den klinischen Vorgehen erwachsen, sind zu augenscheinlich, um besonderer Auseinandersetzung zu bedürfen. Die weitere Entwicklung der hier beschriebenen Methode dürfte in ihrer praktischen Anwendung minderwertige Sera ganz verbannen. Ermöglicht doch diese Methode schon bei einmaliger Fällung Sera von 200—250 I. E. — wie man sie von jedem Pferde selbst mit nicht sehr starken Toxinen in einigen Wochen erhalten kann — auf 800—1000 I. E. zu bringen. Freilich scheint eine solche Anreicherung schon jetzt seit einiger Zeit unter Verwendung von Ammoniumsulfat und anderer Salze angestrebt zu werden, wenigstens zeigen viele der hochwertigen Sera einen verhältnismäßig geringen Proteingehalt, manche enthalten nur Globuline. Es deutet jedoch schon der hohe Preis solcher Sera darauf

---

[1]) Man kann auch diese elegante Methode mit der unseren kombinieren, indem man das Filtrat von der Alaunfällung mit Natriumsulfat fällt, nur muß sehr schnell gearbeitet werden, da unter dem Einflusse des Kali-Alauns die Globulinniederschläge zu schnell unlöslich werden.

hin, daß die Methoden ihrer Darstellung nicht sehr ökonomisch sind — hatten doch die Verfasser Gelegenheit bei Durchprüfung der bis jetzt bekannten und veröffentlichten Darstellungsmethoden Verluste von 60—80% Antitoxin zu konstatieren. Außerdem ist über diese fraktionierten Sera zu wenig veröffentlicht worden. Gewiß wäre es äußerst wünschenswert, die Antitoxine in möglichst eiweißarmen Lösungen anzureichen, unter besonderer Rücksichtnahme, ob es nicht möglich wäre, gleichzeitig die Träger der „Serumkrankheit" zu eliminieren. Es sollte jedoch gerade hier die größte Sorgfalt geboten sein. Nehmen wir eine Vielheit der Antitoxine an — und bis auf weiteres ist eine solche nicht von der Hand zu weisen —, so sollte uns der Gedanke an die respektive Wirkung, z. B. des Opiums und dessen Einzelbestandteile, freilich nur als ganz entfernte, aber nicht unmögliche Analogie, zur Vorsicht mahnen, Serumfraktionen, die nicht das gesamte Antitoxin des ursprünglichen Serums enthalten, nicht ohne genauere klinische Nachprüfung in dis Praxis gelangen zu lassen.

Was andere Heilsera anbetrifft, so haben uns Vorversuche gezeigt, daß sie sich dem Diphtherieserum analog verhalten, d. i., daß ihre aktiven Bestandteile durch Halbsättigung der warmen Lösung mit Natriumsulfat gefällt werden. Der eine von uns hat die Bearbeitung des Tetanus- und des Streptokokkus-Antitoxins vermittels dieser Methode in Angriff genommen, und bittet, ihm diesen Teil zur weiteren Bearbeitung zu überlassen.

Physiopathologische Wirkung kolloidaler Metalle auf den Menschen.

Von

Privatdozent Dr. **M. Ascoli** und stud. med. **G. Izar.**

(Aus dem Institute für spezielle Pathologie der Kgl. Universität Pavia [Prof. L. Devoto].)

(Eingegangen am 16. Juli 1907.)

In einer früheren Mitteilung wurde dargetan, daß die Leberautolyse durch Zusatz geringer Mengen von kolloidalen Gold-, Platin- oder Silberlösungen eine energische Beschleunigung erfährt. Am Schlusse jenes Aufsatzes wurde unter den sich auf Grund der mitgeteilten Befunde ergebenden Fragen auch diejenige einer eventuellen Beeinflussung des Stoffwechsels bei Einführung derselben kolloidalen Lösungen in den lebenden Organismus hervorgehoben. Die diesbezüglichen Versuche bilden den Gegenstand folgender Zeilen.

Über die Einwirkung kolloidaler Metalle auf den Stoffwechsel liegen nur spärliche Angaben vor. Galeotti und Todde[1]) fanden im Tierversuche, daß nach der Bredigschen Methode elektrisch hergestellte kolloidale Silber-, Gold- und Platinlösungen Gewichtsabnahme und schwere Kachexie hervorrufen, denen bei histologischer Untersuchung hochgradige Cellularatrophie entsprach. Henri und Gompel[2]) bemerkten an Kaninchen nach intravenöser Einspritzung relativ enormer Mengen (20 ccm) kolloidalen Silbers eine geringfügige Temperaturerhöhung. Angaben über den Einfluß kolloidaler Metallösungen auf die Umsätze finden sich auch bei A. Robin[3]) und Bardet[4]), welche Autoren bekannt-

---

[1]) G. Galeotti und Todde, Lo Sperimentale **1902**, 341.

[2]) Henri und Gompel, Compt. rend. de la Soc. de Biol. **2**, 367, 1906.

[3]) Robin, Bulletin de Thérapeutique 1904.

[4]) Robin et Bardet, ibid.

lich jene Substanzen, ebenso wie verschiedene Immunsera (Lactoserum, Diphtherieserum), normales Pferdeserum und Hefereduktasen zur Behandlung von Infektionskrankheiten, zum Zwecke der Beschleunigung der intraorganischen Oxydationsvorgänge vorgeschlagen haben. Robin benutzte nach Bredig dargestellte kolloidale, nicht stabilisierte Silber-, Platin- und Goldlösungen und gibt an, eine beträchtliche Zunahme von Harnstoff und Harnsäure beobachtet zu haben. Die nähere Betrachtung der für 3 Fälle allein angeführten zahlenmäßigen Belege ergibt jedoch nur in einem derselben einen noch dazu geringfügigen Ausschlag. In Anbetracht des Fehlen jeglicher Angaben bezüglich Ernährungsweise und Vorperioden, betreffs bestehenden oder mangelnden N-Gleichgewichts und der herangezogenen Untersuchungsmethoden, wodurch sie den elementaren Forderungen einer Stoffwechseluntersuchung nicht genügen, erübrigt es sich, auf die gewonnenen Resultate einzugehen. Die regellosen Schwankungen dürften vielmehr auf die Vernachlässigung jener unerläßlichen Bedingungen zurückzuführen sein, da sich (vgl. unten) nicht stabilisierte kolloidale Lösungen, mit denen Robin's Versuche angestellt sind (die Verwendung stabilisierter Lösungen wird in keiner Weise angedeutet), physiologisch unwirksam erweisen.

Experimentiert haben wir an uns selbst und an Herrn stud. med. L. Bellazzi, dem wir für die Bereitwilligkeit, mit welcher er sich zu unserer Verfügung stellte, und für die tatkräftige Unterstützung bei den zahlreichen umständlichen, mühevollen Analysen auch an dieser Stelle unseren herzlichsten Dank aussprechen. Außerdem wurden fortlaufende Stoffwechseluntersuchungen an einem an Arteriosklerose leidenden Patienten unserer Klinik ausgeführt, welche aber leider nur teilweise verwertbar sind, da Patient infolge der durch die Injektion bewirkten fieberhaften Temperaturerhöhung am Versuchstage sein festgestelltes Abendmahl nur teilweise verzehrte.

Die betreffenden Versuchspersonen wurden auf N-Gleichgewicht bei gemischter, für die einzelnen Versuche unten angegebener Kost und gleichmäßiger Lebensweise eingestellt. Um in eventuelle Veränderungen der N-Verteilung im Harne einen Einblick zu gewinnen, beschränkten wir uns nicht auf die Bestimmung des ausgeschiedenen Gesamt-N nach Kjeldahl,

sondern dehnten die Analyse auf die verschiedenen Fraktionen des Schacken-N nach Pflüger[1]), Schöndorff[2]), Pfaundler[3]), G. Ascoli[4]) aus. Bezüglich der Technik der verschiedenen Bestimmungen verweisen wir auf die Originalarbeiten der zitierten Autoren. Im allgemeinen mag bemerkt werden, daß Fraktion III (FIII) hauptsächlich den Harnstoff-N enthält, Fraktion II (FII) größtenteils Harnstoff und Monoaminosäuren-N, Fraktion I (FI) Harnsäure, Diamine und Purinbasen-N darstellt. Fraktion IV (FIV) wird durch Subtrahieren der FIII von FII erhalten und ist vorwiegend aus dem Monoaminosäuren-N zusammengesetzt. Sämtliche N-Bestimmungen nach Kjeldahl wurden in Doppelproben ausgeführt, von denen der Mittelwert angegeben ist. Nachdem sich ergeben hatte, daß tatsächlich außer der Zunahme des Gesamt-N auch eine Verschiebung der verschiedenen Fraktionen stattfand, bestimmten wir in den folgenden Versuchen außerdem gesondert den Harnstoff nach Mörner-Siöqvist-Bödtker, die Harnsäure nach Hopkins-Wörner. Die Phosphorsäure wurde durch Titration mit Uranacetat bestimmt.

In Versuchen A und B bezweckten wir auch die zeitliche Verfolgung der zutage tretenden Erscheinungen, behufs dessen wir den in 3stündlichen Intervallen gelassenen Harn den angegebenen Analysen unterzogen. In den übrigen Untersuchungen wurden die Bestimmungen am getrennt aufgefangenen Tagesharn (von 9 Uhr morgens bis 7 Uhr abends) und Nachtharn ausgeführt.

Die kolloidalen Lösungen wurden von uns selbst nach der Bredigschen Methode hergestellt. Zur Verfügung stand uns Gleichstrom von 110 Volt Spannung; außer den üblichen Maßregeln (Verwendung von zweimal destilliertem, kohlensäurefreiem Wasser, Jenenser Glasgefäßen usw.) wurde nach Möglichkeit auf aseptisches Arbeiten geachtet (Benutzung von sterilen Gefäßen und Wasser, Aufbewahrung unter aseptischen Kautelen). Obwohl die Bacterizidie der kolloidalen Metallösungen auf gewisse Mikroorganismen durch die Untersuchungen von Henri und Cerno-

---

[1]) Pflügers Archiv f. Physiol. 44.
[2]) Ibidem 62.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 30.
[4]) Pflügers Archiv f. Physiol. 87.

vedeanu[1]), Charrin, Henri und Monier-Vinard[2]) bereits festgestellt ist, wurden die Lösungen vorsichtshalber trotzdem auf Sterilität aerob und anaerob geprüft, wobei sie sich tatsächlich als keimfrei erwiesen. Daraufhin wurden dieselben mit 3prozentiger, im Autoklaven sterilisierter Gelatinelösung bis zum Gehalte von 0,03% zur Stabilisierung versetzt. In Versuchen C (10. 3.) und D (12. 3.) kam vergleichsweise eine nicht stabilisierte kolloidale Silberlösung zur Anwendung. Benutzt wurden folgende Präparate:

Ag Nr. I = kolloidales Silber, $\frac{1}{t}\log\frac{a}{a-x} = 0{,}0499$; wobei $t = 45'$
T = 37° (vgl. Bredig[3])). Ag-Gehalt = 0,034%.

Ag Nr. II = kolloidales Silber, $\frac{1}{t}\log\frac{a}{a-x} = 0{,}0226$.
Ag-Gehalt = 0,027%.

Pt Nr. III = kolloidales Platin, $\frac{1}{t}\log\frac{a}{a-x} = 0{,}0399$.
Pt-Gehalt = 0,045%.

In den folgenden Tafeln A, B, C, D sind die erhaltenen Werte zusammengestellt. In den Kurven a, b, c, d[4]) sind die in den entsprechenden Versuchen gewonnenen Werte graphisch veranschaulicht.

Den Tabellen ist zu entnehmen, daß die **intravenöse und subcutane Zufuhr geringer Mengen (3—7 mg) stabilisierter kolloidaler Silber- und Platinlösungen eine ganz erhebliche Steigerung der N-Ausfuhr hervorruft.** Die Zunahme der N-Ausscheidung tritt in Versuchen A und B bei intravenöser Einverleibung schon nach 3 Stunden hervor, erreicht am nächsten Tage ihren Höhepunkt, um dann abzuklingen und ungefähr am 4. Tage zur Norm zurückzukehren. Bei subcutaner Einspritzung in Versuch D (1.3.) dokumentierte sich die Zunahme erst nach wenigstens 12 Stunden; zog

[1]) Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1906, Nr. 26.
[2]) Ibidem.
[3]) Zeitschr. f. physikal. Chemie 1901.
[4]) Vgl. vorläuf. Mitteil. in „Berl. klin. Wochenschr.“, 24. V. 1907.

sich aber dafür etwas länger (bis zum 5. Tage) hinaus. In betreff der Verabreichung größerer Mengen (200 ccm) **per Klysma** (Versuch C [16. 3.]) und **per os** (100 ccm, Versuch D [8. 3.]) sind bezüglich der quantitativen Verhältnisse der N-Ausscheidung unseren Protokollen unzweideutige Ausschläge nicht zu entnehmen; die geringfügige Steigerung der N-Ausfuhr in Versuch C könnte möglicherweise auf die vorhergehenden Injektionen zu beziehen sein. Hier drückt sich aber die Wirkung auf den Stoffwechsel wesentlich in der sofort zu erörternden Verschiebung der qualitativen Verhältnisse in prägnanter Weise aus.

Bezüglich der N-Verteilung ist zunächst ein deutliches relatives Anwachsen von FI zu konstatieren; die gesonderte Bestimmung (Versuche C und D) der Harnsäure führt diese Abweichung größtenteils auf einen ganz überraschenden Anstieg der Harnsäurekurve zurück. Die betreffenden Werte nähern sich Zahlen, denen man sonst nur in pathologischen Ausnahmefällen zu begegnen gewohnt ist. Der Harnsäureanstieg findet auch bei minder oder gar nicht ausgesprochener Gesamt-N-Ausfuhr statt, so bei rektaler und intrastomachaler Einverleibung. Dieses Verhalten berechtigt uns, wie wir glauben, einen doppelten Schluß zu ziehen, einerseits, daß auch bei Verabreichung per os und per Klysma die kolloidalen Metalle zur Wirkung gelangen; andererseits, daß gerade die Harnsäureerhöhung einen charakteristischen Zug der Stoffwechselwirkung derselben darstellt.

Aus unseren Analysen ergibt sich weiter, daß auch FII an der Gesamt-N-Zunahme beteiligt ist, wobei die direkte Harnstoffbestimmung außerdem ein relatives Anwachsen des UN kundgibt. Diese Steigerung findet etwas später als diejenige der Harnsäure statt; der zeitliche Abstand der zwei Kurvengipfel ist in Versuch D (1. 3.) bei subcutaner Einverleibung größer als bei intravenöser (Versuch C 13. 3., D 24. 2.). Beachtenswert ist ferner der Umstand, daß der Phosphorsäurestoffwechsel gänzlich unbeeinflußt bleibt. **Wir besitzen demnach in den kolloidalen Metallen ein Mittel, um den Stoffwechsel in ganz bestimmter Richtung zu beeinflussen.** Es ist verlockend, diese Erkenntnis zu therapeutischen Zwecken zu verwerten und diesbezügliche Versuche in verschiedener Hinsicht bei Stoffwechselerkrankungen anzustellen.

Vermutungsweise möchten wir hervorheben, daß die physiologische Wirksamkeit der kolloidalen Metalle möglicherweise auf die Anfachung des Nucleinstoffwechsels allein hinausläuft, da der Gesamt-N-Anstieg im allgemeinen durch U + Ū N wohl vollständig gedeckt wird, so daß für andere Abbauprodukte kein Raum übrig bleibt. In demselben Sinne können auch die zeitlichen Ausscheidungsverhältnisse von Ū und U gedeutet werden, wobei noch zu bedenken ist, daß zweifellos die Ū-Werte nur einen Bruchteil der gesamten in Betracht kommenden Harnsäure darstellen, und dementsprechend die U-Zahlen scheinbar gesteigert sind.

Weitere Versuche wurden angestellt zur Entscheidung der Frage, ob das Erhitzen der kolloidalen Lösungen, wie es zu ihrer eventuellen Sterilisation erforderlich wäre, ihre Wirksamkeit beeinträchtigt. Nach den grundlegenden Untersuchungen Bredigs büßen bekanntlich solche Präparate dadurch ihre katalytischen Eigenschaften zum Teile ein. Die in Versuch C (13. 2.) angeführten Zahlen, denen jene mit derselben, aber nicht sterilisierten Lösung in den übrigen Tafeln gegenüberstehen, zeigen, daß das **Erhitzen im Autoklaven auf 120° die physiologische Wirksamkeit der kolloidalen Metalle** — wenigstens bei Einverleibung der angegebenen Dosis — **aufhebt,** daß also eine Sterilisation der einzuspritzenden Lösungen durch Hitze nicht zulässig ist.

Während in den übrigen Versuchen kolloidale Silberlösungen verwendet wurden, benutzten wir in Versuch C eine kolloidale Platinlösung. Wie wir für die begünstigende Wirkung auf die Leberautolyse keine spezifischen Unterschiede zwischen verschiedenen Metallen feststellen konnten, **erscheint auch die Wirkung von kolloidalem Platin und Silber auf den Stoffwechsel gleichartig.**

Versuche C (10. 3.) und D (12. 3.) bezweckten die Wirkung von nicht stabilisiertem Ag zu prüfen. Das Ergebnis desselben beweist unzweideutig, daß kleine Mengen **nicht stabilisierter** kolloidaler Silberlösungen **keine** merkliche Wirkung auf den Stoffwechsel ausüben. Es ist selbstverständlich die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß bei Einspritzung relativ enormer Mengen eine Wirkung doch zutage treten könne; jedenfalls dürfen wir aus dem Versuche folgern, daß der Erfolg stabilisierter Lösungen unvergleichlich größer ist.

Übrigens haben wir der Ursache dieses verschiedenen, im Tierversuche bestätigten Verhaltens nachgeforscht und werden auf die Erscheinung in Bälde zurückkommen. Diese Befunde scheinen uns im Gegensatz zu denjenigen Robin's zu stehen, der über Beeinflussung des Stoffwechsels berichtet, ohne daß die Verwendung stabilisierter Lösungen in keiner Weise angedeutet wird.

In einem Teile der angeführten Versuche trat Temperaturerhöhung auf. In Tabelle I[1]) ist die Temperaturkurve von Versuch A dargestellt; in Versuch B stieg die Temperatur abends vorübergehend auf 37,5°; Versuche C und D verliefen vollkommen fieberlos. In Anbetracht dieser einander widersprechenden Befunde schien es uns geboten, einige weitere Versuche zu unternehmen. Tabelle II[1]) und III[1]) enthalten zwei weitere diesbezügliche Kurven; in anderen vier Fällen blieb die Temperatur trotz Einspritzung von 5—10 ccm Ag Nr. I und Nr. II normal.

Demnach weist das Verhalten der Körpertemperatur nach Einspritzung kolloidaler Metalle kein regelmäßiges Verhalten auf. Ob diese Erscheinung ausschließlich auf individuell verschiedene Empfindlichkeit und Reaktionsfähigkeit, oder aber zum Teil auch auf das verschiedene Alter der eingespritzten Lösungen zurückzuführen ist, vermögen wir vorläufig nicht zu entscheiden. In einigen Fällen war des weiteren eine geringfügige Pulsbeschleunigung und Blutdruckerhöhung zu konstatieren; in Anbetracht der geringen Ausschläge verzichten wir auf ihre detaillierte Wiedergabe. Die lokale Reaktion bei subcutaner Einspritzung in Versuch D (1. 3.) war ganz unbedeutend. Erwähnenswert ist noch das nach einigen Stunden auftretende und einige Stunden andauernde Gefühl von Mattigkeit und Abgeschlagenheit, dem wir in den Versuchen A, B und C begegnen.

Das Ausbleiben jeglicher Temperaturerhöhung in einigen Versuchen, in welchen trotzdem eine eingreifende Veränderung des Stoffwechsels bemerkbar war, die denselben Grad erreichte wie in den fieberhaften Fällen, erlaubt es zu folgern, daß eine ursächliche Beziehung zwischen Temperaturanstieg und Stoffwechselwirkung nicht besteht. Es müssen also beide Erscheinungen als voneinander unabhängige Folgen der Zufuhr kolloidaler Metalle angesprochen werden. Ebenso leicht es aber ist, diesen negativen

Schluß zu ziehen, ebenso schwer dürfte es sein, über den Mechanismus der Stoffwechselablenkung Positives auszusagen, und es sind wohl darüber zurzeit nur Vermutungen möglich. Am nächsten liegt es wohl, an eine katalytische Beeinflussung der sich im menschlichen Körper abspielenden Intraorganreaktionen zu denken, eine Annahme, die in den sinnreichen Versuchen und Ausführungen Schades[2]) eine Stütze findet und auch mit der Beschleunigung der Leberautolyse in bestem Einklang steht.

---

[1]) Vgl. vorläuf. Mitteil. in „Berl. klin. Wochenschr.", 24. V. 1907.

[2]) Medizinisch-katalytische Studien, Habilitationsschrift. Kiel, W. Mühlau, 1907.

Zugehörige Tabellen siehe die folgenden Seiten.

Tafel A.

Salvatore B. 52jähriger Taglöhner, Arteriosklerose. Diät: Mageres Fleisch 100 g, 2 Eier, 50 g Butter, 1 Liter Milch, 60 g Zucker, 600 ccm Bouillon, 350 g Brot, 120 ccm Wein, 800 ccm Wasser.

Datum	Stunde	Behandlung und Bemerkungen	Harnmenge	Spez. Gewicht	Reaktion	Gesamt-N	F I	F II	F III	F IV	In % des Gesamt-N F I	F II	F III	F IV	P_2O_5
8. 1.			915	1024	Sauer	11,402									1,600
9. 1.			1690	1019	Sauer	11,729									1,439
10. 1.			1765	1014	Sauer	11,267									1,626
11. 1.			1585	1017	Sauer	11,204									1,800
12. 1.			1760	1013	Sauer	11,264									1,609
13. 1.			1620	1014	Sauer	11,173									1,672
14. 1.			1870	1015	Sauer	11,033									1,620
	8—11		225	1019	Sauer	1,519	0,380	1,120	1,088	0,032	25,01	73,73	71,62	2,11	0,093
	11—14		370	1012	„	1,867	0,353	1,484	1,374	0,110	18,90	79,48	73,59	5,89	0,233
	14—17		215	1012	„	1,466	0,507	0,888	0,872	0,016	34,58	60,57	59,48	1,09	0,245
	17—8		915	1017	„	6,469	0,350	6,119	5,634	0,485	5,41	94,58	87,09	7,49	1,098
15. 1.			1725		Sauer	11,321	1,590	9,611	8,968	0,643	14,04	84,89	79,21	5,58	1,669
	8—11		145	1023	Alkal.	1,447	0,407	0,931	0,901	0,030	28,12	64,34	62,26	2,08	0,071
	11—14		190	1020	Sauer	1,566	0,201	1,345	1,237	0,108	12,83	85,88	78,99	6,89	0,200
	14—17		415	1010	„	1,768	0,615	1,149	1,109	0,040	34,78	64,98	62,72	2,26	0,292
	17—8		865	1015	„	6,150	0,140	6,005	5,600	0,405	2,27	97,64	91,05	6,59	0,971
16. 1.			1615		Sauer	10,931	1,363	9,430	8,847	0,583	12,55	86,26	80,93	5,33	1,534

	8—11		205	1017	Alkal.	1,351	0,250	0,998	0,947	0,051	28,20	73,87	70,09	3,78	0,123
	11—14		200	1015	Sauer	1,228	0,201	1,014	0,904	0,110	16,36	82,55	73,61	8,94	0,183
	14—17		385	1010	„	1,971	0,600	1,321	1,270	0,051	30,44	67,02	64,43	2,59	0,337
	17—8		1005	1016	„	7,066	0,184	6,883	6,380	0,503	2,60	97,41	90,36	7,05	0,858
17. 1.			1795			11,616	1,335	10,216	9,501	0,705	11,49	87,93	81,79	6,14	1,501
	8—11		170	1022	Sauer	1,375	0,400	0,958	0,900	0,058	29,09	69,67	65,45	4,22	0,209
	11—14		335	1010	„	1,702	0,328	1,343	1,203	0,140	19,26	78,90	70,67	7,23	0,177
	14—17		140	1025	„	1,330	0,506	0,768	0,718	0,050	38,04	57,81	53,98	3,83	0,369
	17—8		885	1018	„	6,726	0,151	6,549	6,140	0,409	2,24	97,37	91,28	6,09	1,001
18. 1.			1530			11,133	1,385	9,618	8,961	0,657	12,44	86,36	80,49	5,87	1,756
	8—11	9 U. morg. 10 ccm Präparat Nr. 1 intravenös. Geg. 11 U. morgens Kopfschmerzen, Mattigkeit, Appetitlosigkeit, b. 7 Uhr abds. Das Mittagessen wird nur zum Teil verzehrt. Temperatur s. unten.	220	1016	Sauer	1,875	0,640	1,216	1,194	0,032	34,13	64,85	63,68	1,17	0,186
	11—14		240	1018	„	1,942	0,404	1,499	1,245	0,254	20,80	77,18	64,10	3,08	0,230
	14—17		200	1020	„	2,080	0,806	1,222	1,180	0,042	38,75	58,75	56,73	2,02	0,090
	17—8		625	1022	„	7,275	0,301	6,870	6,600	0,270	4,13	94,33	90,72	3,61	0,872
19. 1.			1285			13,172	2,151	10,807	10,219	0,588	16,33	82,04	77,58	4,46	1,378
	8—11		245	1011	Sauer	1,862	0,547	1,301	1,270	0,031	21,37	69,87	68,74	1,13	0,182
	11—14		425	1007	„	4,110	0,360	3,731	3,687	0,044	8,75	90,77	89,70	1,07	0,185
	14—17		310	1010	„	1,736	0,480	1,261	1,221	0,040	27,64	72,63	70,33	2,30	0,179
	17—8		630	1018	„	6,588	0,330	6,257	5,807	0,450	5,00	94,97	88,14	6,83	0,708
20. 1.			1610		Sauer	14,296	1,717	12,550	11,985	0,565	12,01	87,78	83,82	3,98	1,254
	8—11		95	1024	Sauer	1,159									0,102
	11—14		85	1024	„	1,095									0,175
	14—17		165	1019	„	1,815									0,237
	17—8		500	1022	„	7,310									0,877
21. 1.			845		Sauer	11,379									1,311

Tafel B.

G. Izar, 23 J. alt, gesund. Mittagessen: 3 Rühreier, 120 ccm Bouillon, 150 g Brot, 500 ccm Wein, 1 Tasse Kaffee. Abendmahl: 3 Eier gesotten, 4 Sardinen, 50 g Butter, 30 g Käse, 210 g Brot, 500 ccm Wein, 1 Tasse Kaffee, 1 Gläschen Kognak.

Datum	Stunde	Behandlung und Bemerkungen	Harnmenge	Spez. Gew.	Reaktion	Gesamt-N	F I	F II	F III	F IV	In % des Gesamt-N				P_2O_5
											F I	F II	F III	F IV	
2. 2.			1570	1026	Sauer	10,676									1,889
3. 2.			2700	1015	Sauer	10,800									1,793
	9—12		135	1022	Sauer	0,551	0,046	0,501	0,471	0,030	8,18	90,92	85,48	5,44	0,195
	12—15		145	1020	„	0,821	0,028	0,783	0,732	0,051	3,41	95,37	89,01	6,36	0,169
	15—18		175	1025	„	1,214	0,404	0,800	0,772	0,028	33,27	65,89	63,59	2,30	0,302
	18—9		1695	1016	„	7,739	1,201	6,458	6,136	0,322	15,51	83,44	79,28	4,16	1,197
4. 2.			2150			10,325	1,679	8,542	8,111	0,431	16,20	82,73	78,55	4,18	1,863
	9—12		125	1026	Sauer	0,634	0,020	0,611	0,596	0,015	3,15	96,34	94,00	2,34	0,152
	12—15		160	1020	„	0,823	0,018	0,815	0,784	0,031	2,18	97,81	95,26	2,55	0,202
	15—18		260	1024	„	2,059	0,504	1,535	1,425	0,110	24,47	74,55	69,25	5,30	0,325
	18—9		520	1030	„	7,280	1,171	6,069	5,898	0,171	16,08	83,36	81,01	2,35	1,195
5. 2.			1065			10,796	1,713	9,020	8,703	0,327	15,86	83,54	80,61	2,93	1,874
	9—12	9 Uhr morgens 7,5 ccm Präparat Nr. I. intravenös. Gegen 5 Uhr nachm. Mattigkeit, Hitze und Schwindelgefühl bis 7 Uhr. Geringe Temperaturerhöhung (Maximum 37°5)	190	1026	Sauer	1,642	0,583	1,019	0,944	0,075	35,50	62,05	57,49	4,56	0,248
	12—15		240	1022	„	1,740	0,585	1,154	1,145	0,009	33,67	66,32	65,80	0,42	0,239
	15—18		105	1034	„	1,868	0,507	1,298	1,273	0,025	27,14	69,48	68,14	1,34	0,114
	18—9		660	1029	„	7,577	1,287	6,270	6,093	0,177	16,98	82,75	80,41	2,34	0,910
6. 2.			1195			12,827	2,962	9,741	9,455	0,286	23,09	75,94	73,71	2,23	1,511
	9—12		210	1024	Sauer	1,512	0,411	1,069	1,059	0,010	27,18	70,70	70,03	0,67	0,233
	12—15		235	1021	„	2,811	0,460	2,325	2,310	0,025	16,36	83,06	82,17	0,89	0,260
	15—18		175	1023	„	1,715	0,600	1,087	1,038	0,049	34,98	63,38	60,52	2,86	0,257
	18—9		880	1028	„	9,222	1,808	7,374	7,249	0,125	19,65	79,96	77,52	2,34	1,197
7. 2.			1500			15,260	3,279	11,865	11,656	0,209	21,48	77,75	76,38	1,37	1,947
	9—12		120	1024	Sauer	1,087	0,061	0,976	0,961	0,015	5,61	89,78	88,40	1,38	0,221
	12—15		160	1025	„	1,530	0,041	1,289	1,274	0,015	2,67	84,24	83,26	0,98	0,300
	15—18		165	1024	„	1,284	0,300	0,955	0,916	0,039	23,36	74,45	71,34	3,11	0,261
	18—9		2200	1015	„	10,340	1,106	9,154	8,940	0,214	10,69	88,53	86,46	2,07	1,683
8. 2.			2645			14,241	1,508	12,374	12,091	0,283	10,58	86,88	84,90	1,98	2,465
9. 2.			1700	1024	Sauer	11,798	1,640	10,840	10,380	0,460	13,90	91,87	87,98	3,89	1,903
10. 2.			1550	1025	Sauer	10,850	1,700	8,936	8,412	0,524	15,66	82,35	77,53	4,82	1,796

Tafel C.

M. Ascoli, 31 Jahre alt, gesund. Frühstück: 80 g Brot, 1 Tasse Milch und 1 Löffel Kakao. Mittagessen: 3 Rühreier, 70 g Brot, 70 g Käse, 400 ccm Milch. Abendmahl: 70 g Brot, 150 ccm Bouillon, 100 g Beefsteak, 35 g Käse, 70 g Kuchen, 3 Datteln.

Datum	Stunde	Behandlung und Bemerkungen	Harnmenge	Spez. Gew.	Reaktion	Gesamt-N	FI	FII	FIII	FIV	Harnstoff-N	Harnstoff	Harnsäure-N	Harnsäure	In % des Gesamt-N: FI	FII	FIII	FIV	Harnstoff-N	Harnsäure-N	P_2O_5
10. 2.			1115	1023	Sauer	15,900															2,382
11. 2.			1325	1022	Sauer	16,300	1,110	15,187	14,427	0,760	14,390	30,837	0,278	0,834							2,250
12. 2.	9—19		460	1025	Sauer	7,222	1,002	5,989	5,117	0,872	4,973	10,757	0,160	0,480							0,938
	19—9		650	1021	„	8,869	0,821	7,984	7,643	0,341	7,559	16,200	0,140	0,420							1,291
			1110		Sauer	16,091	1,823	13,973	12,760	1,213	12,532	26,957	0,300	0,900							2,229
13. 2	9—19	10 Uhr morg. 7 ccm Ag Nr. 1. im Autoklaven auf 120° erhitzt, intravenös. Kein Fieber. Kein Unwohlsein.	700	1010	Sauer	7,252															0,891
	19—9		765	1018	„	8,568															1,321
			1465		Sauer	15,820															2,212
14. 2.	9—19		545	1019	Sauer	5,540															0,621
	19—9		760	1021	„	9,967															1,508
			1305		Sauer	15,507															2,129
5. 3.	9—19		700	1020	Sauer																
	19—9		610	1022	„																
			1310		Sauer	15,214															
6. 3.	9—19		575	1025	Sauer	6,492															
	19—9		690	1021	„	9,177															
			1265		Sauer	15,669															
7. 3.	9—19		660	1021	Sauer	6,739															
	19—9		520	1026	„	9,110															
			1180		Sauer	15,849															
8. 3.	9—19		440	1026	Sauer	6,940	0,469	6,172	5,667	0,505	5,160	11,058	0,137	0,411	6,75	88,64	81,65	6,99	74,34	1,97	0,489
	19—9		720	1020	„	8,950	0,923	7,823	7,002	0,821	6,793	14,557	0,151	0,453	10,31	87,40	78,21	9,19	75,90	1,68	0,817
			1160		Sauer	15,890	1,392	13,995	12,669	1,326	11,953	25,615	0,288	0,864	8,75	88,07	79,72	8,35	75,22	1,81	1,306
9. 3.	9—19		360	1023	Sauer	6,548	0,417	5,700	5,400	0,300	5,266	11,285	0,120	0,360	6,36	87,04	82,46	4,58	80,42	1,83	0,342
	19—9		545	1025	„	8,611	1,089	7,609	6,990	0,619	6,951	14,896	0,143	0,429	12,64	88,36	81,17	7,19	80,72	1,66	0,853
			905		Sauer	15,159	1,506	13,309	12,390	0,919	12,217	26,181	0,263	0,789	9,93	87,79	81,76	6,03	80,58	1,73	1,195

Datum	Stunde	Behandlung und Bemerkungen	Harnmenge	Spez. Gew.	Reaktion	Gesamt-N	F I	F II	F III	F IV	Harnstoff-N	Harnstoff	Harnsäure-N	Harnsäure	In % des Gesamt-N: F I	F II	F III	F IV	Harnstoff-N	Harnsäure-N	P_2O_5
10. 3.	9—19	10 Uhr morg. 10 ccm Ag	740	1016	Sauer	6,697	0,401	5,795	5,327	0,468	5,494	11,774	0,104	0,312	5,98	86,53	79,54	6,99	82,02	1,55	0,509
	19—9	Nr. II, nicht stabilisiert, intravenös.	485	1027	„	8,730	0,954	7,412	7,190	0,322	7,021	15,046	0,140	0,420	10,92	84,90	81,21	3,69	80,42	1,60	0,837
		Kein Fieber. Wohlsein.	1255		Sauer	15.427	1,355	13,207	12,417	0,790	12,515	26,820	0,244	0.732	8,78	85,60	80.48	5,12	81,12	1,58	1,346
11. 3.	9—19		350	1026	Sauer	6,006	0,431	5,405	4,802	0,603	4,718	10,111	0,101	0,303	7,17	89,99	79,95	10,04	78,55	1,67	0,490
	19—9		470	1030	„	9,381	1,041	7,900	7,178	0,722	7,078	15,168	0,163	0,489	11,09	84,21	76,51	7,70	75,45	1,73	0,870
			820		Sauer	15,387	1,472	13,305	11,980	1,325	11,796	25,279	0,264	0,792	9,56	86,46	77,85	9,61	76,65	1,71	1,360
12. 3.	9—19		630	1020	Sauer	7,214	0,460	6,139	5,612	0,527	5,538	11,868	0,124	0,372	6,37	85,09	77,79	7,30	76.62	1,71	0,450
	19—9		340	1026	„	7,786	1,021	6,634	5.902	0,732	5,822	12,577	0,124	0,372	13,11	85,20	75.80	9,40	74,77	1,59	0,860
			970		Sauer	15.000	1,481	12,773	11,514	1,259	11,360	24,445	0,248	0,744	9,87	85,15	76,76	8,39	75,73	1,65	1,310
13. 3.	9—19	10 Uhr morg. 10 ccm	555	1023	Sauer	7,831	0,957	6.608	6,490	0.118	6,472	13,869	0,437	1,311	12,22	84,38	82,87	1,51	82.64	5,58	0,440
	19—9	Pt Nr. III, intravenös. Kein Fieber.	800	1018	„	9,928	1,503	8,200	7,714	0,486	7,684	16,467	0,463	1,389	15,13	82,59	77,59	5,00	77,39	4,66	0,870
		Wohlsein.	1355		Sauer	17,759	2,460	14,808	14,204	0,604	14,156	30,336	0,900	2,700	13,85	83,49	79,98	3,51	79,71	5,06	1,311
14. 3.	9—19		780	1017	Sauer	7,394	0,787	6,305	6,111	0,194	6.101	13,074	0,133	0,399	10,64	85,27	82,78	2,49	82,51	1,79	0,389
	19—9		585	1025	„	9.062	0,734	8,011	7,691	0,320	7,689	16,478	0,204	0,612	8,09	88,40	84,98	3,42	84,89	2.25	0,907
			1365		Sauer	16,456	1,521	14,316	13,802	0,514	13,790	29,552	0,337	1,011	9,23	86,99	83,87	3,12	83,79	2,29	1,296
15. 3.	9—19		530	1025	Sauer	6,874	0,504	6,207	5,807	0,400	5,756	12,335	0,104	0,312	7,33	90,29	84,48	5,81	83,73	1,51	0,474
	19—9		505	1023	„	8,449	0,512	7,627	7.003	0,624	7,000	15,001	0,132	0,396	6,06	90,27	82,88	7,39	82.85	1,56	0.887
			1035		Sauer	15,323	1,016	13.834	12,810	1,024	12,756	27,336	0,236	0,708	6,64	90,28	83,59	6,69	83,24	1,54	1,361
16. 3.	9—19	10 Uhr morg. 200 ccm	500	1021	Sauer	7,150	0,867	6,124	5,703	0,421	5,680	12,172	0,413	1,239	12.12	85,65	79,76	5,89	79,44	5,77	0,507
	19—9	Ag Nr. II, per Klysma. Kein Fieber.	505	1026	„	9,040	0,802	8,123	7,600	0,523	7,595	16,476	0,860	2,580	8,87	89,85	84.07	5,78	83,96	9,51	0.820
		Wohlsein.	1005		Sauer	16,190	1,669	14,247	13,303	0,944	13,275	28,648	1,273	3,819	10,30	87,99	82,16	5,83	81,99	7,86	1,327
17. 3.	9—19		650	1020	Sauer	6,838	0,969	5,559	5,417	0,142	5,414	11,602	0,168	0,504	14,17	81,29	79,22	2,07	79,19	7,37	0,460
	19—9		590	1023	„	9,251	1,304	7,749	7,199	0,550	7,192	15,412	0,395	1,185	14,09	83,76	77,81	5,95	77,74	12,80	0,825
			1240		Sauer	16,089	2,273	13,308	12,616	0,692	12,606	27,014	0,563	1,689	14,12	82,71	78,41	4,30	78,35	10,49	1,285
18. 3.	9—19		475	1028	Sauer	6,783	0,472	6,300	5,908	0,392	5,828	12,489	0,123	0,369	6,95	92,87	87,10	5,77	85,92	5,44	0,467
	19—9																				

Tabelle D.

L. Bellazzi, 22 Jahr alt, gesund. Mittagessen: 3 Rühreier, 120 ccm Bouillon, 150 g Brot, 500 ccm Wein, 1 Tasse Kaffee. Abendmahl: 4 Eier, gesotten, 120 ccm Bouillon, 150 g Brot, 500 ccm Wein, 1 Tasse Kaffee.

Datum	Stunde	Behandlung und Bemerkungen	Harnmenge	Spez. Gew.	Reaktion	Gesamt-N	F I	F II	F III	F IV	Harnstoff N	Harnstoff	Harnsäure N	Harnsäure	In % des Gesamt-N: F I	F II	F III	F IV	Harnstoff N	Harnsäure N	P_2O_5
19. 2.			960	1029	Sauer	10,205															2,220
20. 2.			1225	1023	Sauer	10,780															2,216
	9–19		465	1025	Sauer	4,864															0,676
21. 2.	19–9		560	1032	„	6,110															1,560
			1025			10,974															2,236
	9–19		880	1017	Sauer	5,412	0,257	5,136	5,004	0,132	5,030	10,779	0,071	0,213	4,74	94,90	92,46	2,44	94,30	1,31	0,657
	19–9		430	1030	„	5,470	0,770	4,878	4,478	0,400	4,386	9,399	0,209	0,627	14,07	89,17	81,86	7,31	80,18	3,82	1,460
22. 2.			1310			10,882	1,027	10,014	9,482	0,532	9,416	20,178	0,280	0,840	9,44	92,02	87,88	4,14	86,52	2,57	2,117
	9–19		500	1025	Sauer	4,095	0,187	3,915	3,890	0,025	3,790	8,122	0,068	0,204	4,56	95,60	94,99	0,61	92,50	1,66	0,733
	19–9		445	1030	„	6,617	0,712	5,714	5,253	0,461	5,580	11,958	0,199	0,597	10,76	86,35	79,11	7,24	84,50	3,00	1,267
23. 2.			945			10,712	0,899	9,629	9,143	0,486	9,370	20,080	0,267	0,801	8,39	89,88	85,35	4,53	87,48	2,49	2,000
	9–19	9 Uhr morgens 10 ccm ag Nr. I intravenös. Abends 37,3° Mattigkeit, Appetitlosigkeit	705	1022	Sauer	7,050	0,880	5,435	4,977	0,458	4,378	9,382	0,182	0,546	12,48	77,09	70,59	6,50	62 09	2,58	0,639
24. 2.	19–9		470	1028	„	9,795	1,054	8,600	8,527	0,073	8,535	18,291	0,818	2,454	10,76	87,90	86,44	1,46	87,13	8,35	1,262
			1175			16,845	1,934	14,035	13,504	0,531	12,913	27,673	1,000	3,000	11,48	82,39	80,16	2,23	76,65	5,93	1,901
	9–19		585	1021	Sauer	5,850	0,210	5,640	5,617	0,023	5,619	12,042	0,203	0,609	3,59	96,41	96,01	0,40	96,05	3,47	0,730
25. 2.	19–9		675	1025	„	7,472	0,607	6,800	6,690	0,110	6,707	14,375	0,431	1,293	8,12	91,00	89,53	1,47	89,76	5,76	1,400
			1260			13,322	0,817	12,440	12,307	0,133	12,326	26,415	0,634	1,902	6,13	93,38	92,38	1,00	92,52	4,75	2,130
	9–19		875	1018	Sauer	5,863	0,517	5,240	4,947	0,293	4,833	10,397	0,139	0,417	8,81	89,37	84,37	5,00	82,43	2,37	0,692
26. 2.	19–9		705	1024	„	6,012	0,527	5,469	5,400	0,069	5,383	11,536	0,142	0,426	8,76	90,97	89,82	1,15	89,57	2,36	1,485
			1580			11,875	1,044	10,709	10,347	0,362	10,216	21,933	0,281	0,843	8,78	90,60	87,13	3,47	86,02	2,36	2,177

Datum	Stunde	Behandlung und Bemerkungen	Harnmenge	Spez. Gew.	Reaktion	Gesamt-N	F I	F II	F III	F IV	Harnstoff N	Harnstoff	Harnsäure N	Harnsäure	In % des Gesamt-N						P_2O_5
															F I	F II	F III	F IV	Harnstoff N	Harnsäure N	
27. 2.	9–19		930	1015	Sauer	5,152	0,208	4,900	4,715	0,185	4,845	10,383	0,106	0,318	4,03	95,10	91,51	3,59	90,04	2,05	0,787
	19–9		670	1022	„	6,646	0,697	5,862	5,635	0,227	5,616	12,035	0,147	0,441	10,48	88,20	84,78	3,42	84,50	2,21	1,493
			1600			11,798	0,905	10,762	10,350	0,412	10,461	22,418	0,253	0,759	7,67	91,21	87,72	3,49	88,65	2,14	2,280
28. 2.	9–19		610	1017	Sauer	5,167	0,197	4,840	4,635	0,205	4,624	9,909	0,116	0,348	3,81	93,67	89,70	3,97	89,49	2,24	0,519
	19–9		500	1029	„	5,500	0,423	5,028	4,908	0,120	4,930	10,565	0,147	0,441	7,69	91,41	89,23	2,18	89,61	2,67	1,391
			1110			10,667	0,620	9,868	9,543	0,325	9,554	20,474	0,263	0,789	5,81	92,50	89,46	3,04	89,56	2,46	1,910
1. 3.	9–19	20 ccm Ag Nr. I subcutan, 9 Uhr morgens, kein Fieber, Mattigkeit, keine lokale Reaktion	700	1014	Sauer	4,179	0,152	3,920	3,829	0,091	3,794	8,131	0,096	0,288	3,63	93,80	91,64	2,16	90,78	2,92	0,579
	19–9		555	1022	„	6,105	0,830	5,262	4,762	0,500	4,795	10,276	0,638	1,914	13,59	86,19	77,67	8,52	78,54	10,45	1,334
			1255			10,284	0,982	9,182	8,591	0,591	8,589	18,407	0,734	2,292	9,54	89,28	83,53	5,75	83,51	7,13	1,913
2. 3.	9–19		580	1022	Sauer	6,600	0,517	6,027	5,809	0,218	5,400	11,572	0,496	1,488	7,83	91,31	88,11	3,20	81,81	7,51	0,667
	19–9		520	1030	„	9,724	0,984	8,790	7,704	1,086	7,696	16,493	0,721	2,163	10,11	90,39	79,22	11,17	79,14	7,41	1,633
			1100			16,324	1,501	14,817	13,513	1,304	13,096	28,065	1,217	3,651	9,19	90,76	82,77	7,99	80,22	7,45	2,300
3. 3.	9–19		640	1020	Sauer	5,933	0,121	5,777	5,504	0,273	5,410	11,594	0,097	0,291	2,03	97,37	92,76	4,61	91,18	1,63	0,608
	19–9		600	1028	„	7,254	0,604	6,272	6,076	0,196	6,070	13,008	0,499	1,497	8,32	86,46	83,76	2,70	83,67	6,87	1,355
			1240			13,187	0,725	12,049	11,580	0,469	11,480	24,602	0,596	1,788	5,49	91,37	87,81	3,56	87,05	4,51	1,963
4. 3.	9–19		485	1025	Sauer	6,213	0,464	5,727	5,481	0,246	5,413	11,600	0,107	0,321	7,46	92,17	88,21	3,96	88,08	1,72	0,619
	19–9		580	1030	„	7,598	0,687	6,869	6,570	0,299	6,481	13,889	0,245	0,735	9,04	90,40	86,47	3,93	85,29	3,22	1,418
			1065			13,811	1,151	12,596	12,051	0,545	11,894	25,489	0,352	1,056	8,33	91,20	87,25	3,95	86,12	2,54	2,037
5. 3.	9–19		650	1018	Sauer	5,941	0,419	5,340	4,795	0,545	4,780	10,244	0,117	0,351	7,05	89,88	80,71	9,17	80,45	1,96	0,505
	19–9		480	1030	„	6,053	0,667	5,280	5,009	0,271	5,050	10,822	0,211	0,633	11,01	87,22	82,75	4,47	83,42	3,48	1,894
			1130			11,994	1,086	10,620	9,804	0,816	9,830	21,066	0,328	0,984	9,05	88,54	81,74	6,80	81,95	2,72	2,399
6. 3.	9–19		520	1020	Sauer	5,871	0,480	5,170	4,798	0,372	4,888	11,242	0,114	0,342	8,17	88,05	81,72	6,33	83,25	1,94	0,545
	19–9		640	1025	„	7,891	0,803	6,907	6,704	0,203	6,675	14,305	0,280	0,840	10,17	86,26	84,99	1,27	84,58	3,54	1,295
			1160			13,762	1,283	12,077	11,502	0,575	11,563	25,547	0,394	1,182	9,39	87,75	83,57	4,18	84,02	2,86	1,840

7. 3.	9–19		490	1030	Sauer	3,817	0,277	3,280	3,170	0,110	3,087	6,615	0,084	0,252	7,22	85,93	83,04	2,89	80,87	2,20	0,429
	19–9		620	1019	„	6,665	0,507	5,680	5,250	0,430	5,230	11,208	0,219	0,657	7,60	85,22	78,76	6,46	78,47	3,28	1,835
			1110			10,482	0,784	8,960	8,420	0,540	8,317	17,823	0,303	0 909	7,46	85,48	80,32	5,16	79,34	2,89	2,264
8. 3.	9–19	9 Uhr morgens 100 ccm Ag Nr. II per os. Wohlsein	750	1015	Sauer	5,423	0,427	4,707	4,503	0,204	4,533	9,714	0,113	0,339	7,87	86,79	83,03	3,76	83,58	2,08	0,463
	19–9		450	1030	„	6,143	0,409	5,732	5,627	0,105	5,430	11,637	0,266	0,798	6,65	93,30	91,60	1,70	88,39	4,33	1,889
			1200			11,566	0,836	10,439	10,130	0,309	9,963	21,351	0,379	1,137	7,22	90,25	87,58	2,67	86,14	3,27	2,352
9. 3.	9–19		790	1018	Sauer	5,349	0,406	4,860	4,672	0,188	4,472	9,583	0,285	0,855	7,59	90,85	87,34	3,51	83,64	5,32	0,380
	19–9		555	1025	„	5,639	0,404	5,227	5,007	0,220	4,907	10,516	0,284	0,852	7,16	92,69	88,79	3,90	87,72	5,03	1,890
			1345			10,988	0,810	10,087	9,679	0,408	9,379	20,099	0,569	1,707	7,37	91,80	88,08	3,72	85,36	5,17	2,270
10. 3.	9–19		450	1028	Sauer	4,496	0,342	4,107	3 709	0,398	3,557	7,623	0,176	0,528	7,60	91,34	82,49	8,85	79,11	3,91	0,430
	19–9		535	1030	„	6,484	0,364	6,100	5,940	0 160	5,933	12,713	0,140	0,420	5,61	94,07	91,61	2,46	91,50	2,16	1,590
			985			10,980	0,706	10,207	9,649	0,558	9,490	20,336	0,316	0,948	6,42	92,95	87,87	5,08	86,46	2,87	2,020
11. 3.	9–19		810	1018	Sauer	4,982	0,400	4,222	3,900	0,322	3,823	8,193	0,136	0,408	8,02	84,74	78,28	6,46	76,73	2,72	0,480
	19–9		650	1024	„	6,890	0,381	6,507	6,304	0,203	6,006	12,871	0,139	0,417	5,53	94,44	91,49	2,95	87,02	2,01	1,500
			1460			11,872	0,781	10,729	10,204	0,525	9,829	21,064	0,275	0,825	6,57	90,37	85,95	4,42	82,62	2,31	1,980
12. 3.	9–19	9 Uhr morgens 10 ccm Ag Nr. II, nicht stabilisiert, intravenös. Wohlsein	730	1015	Sauer	4,380	0,329	4,029	3,809	0,220	3,679	7,884	0,096	0,288	7,51	91,98	86,96	5,02	83,99	2,21	0,500
	19–9		550	1026	„	6,133	0,396	5,691	5,400	0,291	5,390	11,551	0,123	0,369	6,45	92,79	88,04	4,75	87,88	2,00	1,495
			1280			10,513	0,725	9,720	9,209	0,511	9,069	19,435	0,219	0,657	6,89	92,45	87,54	4,91	86,26	2,08	1,995
13. 3.	9–19		810	1017	Sauer	4,779	0,280	4,170	4,009	0,161	3,990	8,551	0,152	0,456	5,86	83,57	81,79	1,78	81,39	3,18	0,607
	19–9		570	1027	„	5,985	0,377	5,500	5,280	0,220	5,246	11,242	0,160	0,480	6,29	91,89	88,22	3,67	87,65	2,67	1,340
			1380			10,764	0,657	9,670	9,289	0,381	9,236	19,793	0,312	0,936	6,10	89,83	86,29	3,54	85,84	2,89	1,947
14. 3.	9–19		800	1018	Sauer	4,860	0,210	4,470	4,270	0,200	4,130	8,857	0,091	0,273	4,37	93,12	88,95	4,17	86,03	1,89	0,590
	19–9		540	1027	„	5,994	0,407	5,410	5,100	0,310	5,200	11,144	0,156	0,468	6,79	90,25	85,08	5,17	86,75	2,60	1,480
			1340			10,794	0,617	9,880	9,370	0,510	9,330	20,001	0,247	0,741	5,71	91,53	86,80	4,73	86,43	2,28	2,070
15. 3.	9–19		810	1017	Sauer	5,443	0,400	5,091	4,800	0,291	4,770	10,222	0,071	0,213	7,34	93,53	88,18	5,35	87,63	1,3	0,512
	19–9		500	1028	„	5,470	0,470	4,911	4,680	0,231	4,507	9,659	0,198	0,594	8,40	89,78	85,55	4,23	82,39	3,61	0,408
			1310			10,913	0,870	10,002	9,480	0,522	9,277	19,881	0,269	0,807	7,97	91,65	86,86	4,79	85,00	2,46	1,920

Zur Frage nach der Einwirkung verdünnter Schwefelsäure auf Eiweißstoffe.

Von

Leo Langstein.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Kgl. Universitäts-Kinderklinik zu Berlin.)

(Eingegangen am 13. Juli 1907.)

Die Frage nach der Wirkung verdünnter Säure auf Eiweißkörper ist in den letzten Jahren mehrfach bearbeitet worden — einesteils um durch Isolierung höherer Atomkomplexe, die bei der Einwirkung verdünnter Säure sicherlich entstehen, zu einem tieferen Eindringen in die Kenntnis von der Konstitution des Eiweißmoleküls zu gelangen, andererseits um das Verständnis über die Wirkung des peptischen Enzyms zu vertiefen. Lawrow[1]) speziell kam zu dem Schluß, daß „die Wirkung des Pepsins und Salzsäure bei 40° sich von jener der reinen Salzsäure bei 40° nur durch die Raschheit des Verlaufes, nicht durch die Quantität der Endprodukte unterscheidet.

Ed. Swirlowsky[2]) setzte die Untersuchungen Lawrows mit dem Ziele fort, speziell den Nachweis zu erbringen, ob bei der Wirkung der 0,5 prozentigen Salzsäure auf Eiweißkörper sich die von Lawrow bereits vermuteten Monoaminosäuren bilden. Als Objekte der Untersuchungen dienten ihm: Gelatine, koagulierte, und zwar zum Teil feuchte, zum Teil auch bei 103—105° getrocknete Eiweißkörper des Pferdeblutserums, Casein der Kuhmilch, krystallinisches Pferdebluthämoglobin und aus dem Pepton Wittes ausgesalzene Albumosen.

Swirlowsky fand, daß die hydrolytische Wirkung der 0,5 prozentigen Salzsäure ihrer Intensität nach auf verschiedene Eiweißkörper verschieden wirkt: Die 150 Tage andauernde Hydrolyse der Gelatine führte nicht zur Bildung freier Mono-

---

[1]) Lawrow, Zeitschr. f. physiol. Chemie **43**.

[2]) Swirlowsky, Zeitschr. f. physiol. Chemie **48**.

aminosäuren, während die Bildung solcher Säuren bei der Hydrolyse der übrigen genannten Eiweißkörper zu konstatieren war.

Dieses Ergebnis war für mich deswegen von Interesse, weil ich bei vor einigen Jahren im Institute meines Lehrers Hofmeister ausgeführten Untersuchungen über die Endprodukte der peptischen Verdauung des krystallisierten Ovalbumins die Beobachtung gemacht hatte, daß 1 prozentige Schwefelsäure bei einer Temperatur von 37° feingepulvertes, bei 100° getrocknetes krystallinisches Ovalbumin auch in Monaten nicht zu lösen imstande ist, ich mich demnach berechtigt glaubte, die von mir festgestellte Bildung von Monoaminosäuren lediglich auf Rechnung der Anwesenheit des peptischen Enzyms zu setzen.

Die genannten Arbeiten der russischen Autoren veranlaßten mich zur neuerlichen Bearbeitung des Problems, zumal sich Swirlowsky auf Grund seiner Experimente zu der Bemerkung veranlaßt sah, „die Angabe L. Langsteins[1]): 1 prozentige Schwefelsäure vermag bei einer Temperatur von 37° feingepulvertes, bei 100° getrocknetes krystallinisches Eieralbumin auch in Monaten nicht zu lösen", dürfte nach diesen meinen Versuchen skeptisch aufzufassen sein und müßte einem kritischen Kontrollversuch unterworfen werden.

Zur endgültigen Entscheidung der Frage setzte ich folgende Proben an:

24. August 1906. 3 g krystallisierten koagulierten bei 100° getrockneten staubfein gepulverten Ovalbumins (aus dem Laboratorium Hofmeisters bezogen) mit 100 ccm 1 prozentiger Schwefelsäure.

24. August. 3 g reinsten getrockneten Caseins mit 100 ccm 1 prozentiger Schwefelsäure.

24. August. 3 g koagulierten getrockneten Lactalbumins mit 100 ccm 1 prozentiger Schwefelsäure.

24. August. 3 g koagulierten getrockneten Serumalbumins mit 100 ccm 1 prozentiger Schwefelsäure.

Sämtliche Proben wurden monatelang in Erlmeyerkölbchen bei 37° unter Toluol belassen und am 24. April 1907 verarbeitet.

Keine einzige Probe zeigte eine vollständige Lösung der Eiweißkörper. Das Ovalbumin lag scheinbar vollständig unver-

---

[1]) Langstein, Zeitschr. f. physiol. Chemie 39.

ändert auf dem Boden des Gefäßes, die Flüssigkeit zeigte nur eine minimale Opalescenz.

Ebensowenig waren Serumalbumin, Lactalbumin und Casein in Lösung gegangen, doch war die Säure, die mit dem Serumalbumin digeriert worden war, braun gefärbt, diejenige, in der sich das Casein resp. Lactalbumin befunden hatte, stark opalescent.

Die Stickstoffbestimmungen der filtrierten Probenn ach Kjeldal ergaben den Anteil der in Lösung gegangenen Eiweißkörper:

Von	3 g	Ovalbumin	waren	gelöst	77,7 mg	N,
„	3 „	Serumalbumin	„	„	171,36 „	„
„	3 „	Lactalbumin	„	„	114,8 „	„
„	3 „	Casein	„	„	173,25 „	„

In Übereinstimmung mit meinen früheren Untersuchungen geht aus dieser Versuchstabelle hervor, daß das getrocknete krystallisierte Ovalbumin tatsächlich zu denjenigen Eiweißkörpern gehört, die gegenüber der Einwirkung verdünnter Schwefelsäure am refraktärsten sich verhalten: nur ungefähr 18% des N sind während achtmonatlicher Digestion in Lösung gegangen. Die gelöste Stickstoffmenge erwies sich vollständig durch Phosphorwolframsäure fällbar; auch war ich nicht imstande, durch irgend eine Probe die Anwesenheit freier Monoaminosäuren festzustellen. Der Satz, den ich seinerzeit aufstellte, daß die von mir festgestellte Bildung freier Monoaminosäuren bei langdauernder Digestion von Ovalbumin mit 1 prozentiger Pepsinschwefelsäure auf Rechnung der Enzymwirkung zu setzen ist, besteht dennoch auch heute noch zu Recht, und ist durch die Experimente Ed. Swirlowskys nicht erschüttert. Eine andere Frage, die zu entscheiden außerhalb des Bereichs der gewählten Versuchsanordnung liegt, ist die, ob das Pepsin oder andere ihm beigemengte Enzyme die erörterte Wirkung ausgeübt haben.

Zum Schlusse möchte ich nur noch auf die relativ schwere Angreifbarkeit des koagulierten getrockneten Lactalbumins durch Säure hinweisen — analog verhielt sich dieser Eiweißkörper der Pepsinsalzsäure gegenüber —, während er in löslichem Zustand durch Pepsinsalzsäure außerordentlich leicht angegriffen wird, wie von Dr. Lempp auf meine Veranlassung ausgeführte Untersuchungen gelehrt haben, über die er demnächst ausführlich berichten wird.

Die Einwirkung von Farbstofflösungen auf die Hitzekoagulation von Eiweißlösungen.

Ein Beitrag zur Kenntnis des Färbeprozesses.

Von

Hans Aron.

(Aus dem Physiologischen Institut der Kgl. Tierärztlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 24. Juli 1907).

Über die Natur der Verbindungen, die sich beim Färben zwischen Eiweißkörpern und Farbstoffen bilden, ist man lange Zeit recht verschiedener Ansicht gewesen. Während die einen annahmen, daß sich hier wahre chemische Verbindungen bilden, wollten die anderen in dem Färbevorgang nur einen rein physikalischen Prozeß sehen. Die Fortschritte der Kolloidchemie lehrten dann, daß Kolloide, wie Eiweiß, in ausgedehntem Maße die Fähigkeit besitzen, sowohl Elektrolyte wie vor allem Kolloide elektrisch entgegengesetzten Vorzeichens durch Adsorption zu binden[1]), und man neigt deshalb in neuerer Zeit der Ansicht zu, auch die Farbstoffeiweißverbindungen als „Adsorptionsverbindungen" zu betrachten[2]). Für saure Farbstoffe, von denen im folgenden nur die Rede sein soll, muß man sich dann vorstellen, daß Eiweiß die Farbsäure adsorbiert und sich beide verbinden, ganz ähnlich, wie sich ein Kolloid mit einem entgegengesetzt geladenen Kolloide zu einem Kolloidkomplex vereinigt[1]) [2]). Eine solche Vorstellung stößt um so weniger auf Schwierigkeiten, als neuere Forschungen gezeigt haben, daß sich viele Farbstoffe den Kolloiden ähnlich, vornehmlich aber die Farbsäuren, in vieler Hinsicht wie elektronegative Kolloide[2]) [3]) verhalten.

---

[1]) Biltz, Wilh., Ber. d. deutsch. chem. Ges. **37**, 1095—1116 und 1766—1775; Chem.-Zeitg. **27**, 947/948. — Billitzer, Zeitschr. f. physikal. Chemie **45**, 307—330.

[2]) Michaelis, L., Pflügers Archiv **97**, 634. — Zacharias, P. D., Chem.-Ztg. **26**, 289—291.

[3]) Rählmann, Pflügers Archiv **102**, 128—171.

Die Adsorptionsverbindungen der Kolloide sind vor allem dadurch ausgezeichnet, daß sich ihre Komponenten nicht nach festen stöchiometrischen Verhältnissen vereinigen, sondern in Relationen, die abhängen von dem Mengenverhältnis beider Komponenten in der Lösung. Der entstehende Komplex oder die entstehende Verbindung weist nun — und das ist für uns das wichtigste — die physikalischen Reaktionen derjenigen Komponente auf, die in der Lösung überwiegt; je mehr diese überwiegt, desto mehr läßt auch der ganze Komplex die Eigenschaften dieser Komponente erkennen. Besonders deutlich zeigt sich das, wenn sich ein „Suspensionskolloid"[1]) mit einem „hydrophilen" Kolloid[1]) verbindet. Wird ein durch Elektrolyte leicht fällbares Suspensionskolloid mit einem schwer fällbaren (hydrophilen) Kolloid, z. B. Gelatine, in genügender Menge versetzt, so wird ein an sich auf das Suspensionskolloid fällend wirkender Zusatz von Elektrolyten keine Fällung mehr hervorrufen, vorausgesetzt natürlich, daß er die Gelatine nicht ebenfalls fällt. Die Gelatine wirkt hier als sogenanntes „Schutzkolloid"[2]). Umgekehrt, versetzt man ein durch geringe Elektrolytzusätze nicht fällbares Kolloid, wie eine verdünnte Eiweißlösung, mit einem Überschuß einer leicht durch Elektrolyte fällbaren kolloidalen Lösung, wie z. B. einer Mastixemulsion, so wird jetzt durch den geringsten, den Maxtix fällenden Zusatz von Elektrolyten auch das Eiweiß mitgefällt, eine Beobachtung, die sich Michaelis und Rona[3]) jüngst für eine elegante Methode zur quantitativen Enteiweißung von Blutserum usw. zunutze gemacht haben.

Ganz allgemein möchte ich dies Verhalten der Kolloide folgendermaßen charakterisieren: Von zwei in verschiedenen Mengenverhältnissen gelösten Kolloiden, welche sich durch Adsorption binden, macht das in geringerer Menge vorhandene Kolloid gewisse Reaktionen des im Überschuß vorhandenen mit.

Wenn es richtig ist, daß sich Farbstoffe und Eiweißkörper nach Art zweier Kolloide verbinden, müssen sie ebenfalls dieses

---

[1]) Höber, R., Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, II. Aufl., Kap. VII.

[2]) Neisser und Friedemann, Münch. med. Wochenschr. **1904**, 465—469 und 827 ff. — Bechhold, Zeitschr. f. physikal. Chemie **48**, 385—423.

[3]) Michaelis und Rona, diese Zeitschr. **2**, 219—224.

charakteristische Verhalten aufweisen. Farbstoff- und Eiweißlösungen unterscheiden sich nun wenig in ihrem Verhalten gegen Elektrolyte, dagegen eklatant beim Erhitzen: die Eiweißlösungen werden koaguliert, die Farbstofflösungen nicht. Diesen Unterschied könnte man benutzen, um zu untersuchen, ob sich zwischen Eiweißlösungen und geeigneten Farbstofflösungen Verbindungen derart herstellen, daß, je nachdem Eiweiß oder Farbstoff in der Lösung im Überschuß vorhanden ist, Farbstoff oder Eiweiß die Reaktionen des anderen Bestandteils der Lösung mitmacht. Mit anderen Worten: Ob das Eiweiß bei genügendem Farbstoffzusatz nicht mehr hitzekoagulabel ist und ob Farbstoff bei Zusatz von viel Eiweiß beim Erhitzen mitgefällt wird. Den Begriff der „Schutzkolloidwirkung" hat man allerdings bisher wohl auf die Koagulation durch Elektrolytzusatz beschränkt; aber es ist deshalb gerade interessant zu untersuchen, ob sich nicht vielleicht auch für die Hitzekoagulation Reaktionen auffinden lassen, die man als „Schutzwirkungen" betrachten kann[1]).

Ich wählte zu meinen Untersuchungen zwei in ihrer chemischen Konstitution möglichst rein und gut krystallisiert erhältliche saure Farbstoffe: „Eosin", das Natriumsalz des Tetrabromfluoresceins, und „Aurantia", das Ammoniumsalz des Hexanitrodiphenylamins; beide wurden durch Umkrystallisieren nochmals gereinigt. Als Eiweißlösung verwandte ich fünffach verdünntes, mit etwas Chlornatrium versetztes Pferdeserum. Die Proben wurden mit steigenden Mengen Farbstofflösung versetzt, auf ein gleiches Volumen aufgefüllt und zusammen 20 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt. Die charakteristischsten Versuche seien im folgenden angeführt: Den Grad des entstehenden Niederschlags bezeichnen die Kreuze; (+) bedeutet Trübung, (0) nicht ganz klar.

Tabelle I.

Eosin, 1,25 proz. Lösung	Serumlösung I	Wasser	Niederschlag
0	0,5	0,5	+++
0,1	0,5	0,4	++
0,2	0,5	0,3	(+)
0,3	0,5	0,2	(0)
0,5	0,5	0,0	0

[1]) Soeben berichtet Lüppo-Cramer, Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloide 1, 227—229, bei Gelegenheit anderer Untersuchungen auch über die Schutzwirkung von Farbstoffen auf kolloidale Silberlösungen, bei denen er unter anderen Schutzwirkungen auch solche gegen die Hitzekoagulation beobachtet hat.

Eosin, 0,5 proz. Lösung	Serumlösung II	Wasser	Niederschlag
0	1	5	+++
2	1	3	+
3	1	2	(+)
4	1	1	(0)
5	1	0	0

Tabelle II.

Aurantia, kalte, gesättigte Lösung	Serumlösung III	Wasser	Niederschlag
0,1	1	1,9	++++
0,25	1	1,75	+++
0,5	1	1,5	++
1,0	1	1,0	(+)
0	1	5	++
1	1	4	(+)
2	1	3	0
3	1	2	0
4	1	1	0
5	1	0	0
0,1	1	3	+++
1	1	2	+
1,5	1	1,5	(+)
2	1	1	0
3	1	0	0

Aus diesen Tabellen ergibt sich deutlich, daß bei steigendem Farbstoffzusatz der durch Hitzekoagulation in den Eiweißlösungen zu erzielende Niederschlag abnimmt, um schließlich gleich Null zu werden. Die Schutzwirkung der genannten Farbstoffe erlaubt, daß mit den Farbstoffen in genügender Menge versetzte Eiweißlösungen auf freier Flamme gekocht werden, ohne daß sie sich trüben. Interessant ist vielleicht noch, daß, wie Tabelle II zeigt, der Eintritt des totalen Schutzes nur von dem Mengenverhältnis Farbstoff zu Eiweiß abhängig ist, gleichgültig, wie stark die Verdünnung der Lösung ist.

Aus diesen Versuchen darf man aber noch nicht ohne weiteres folgern, daß die beobachteten Schutzwirkungen wirklich allein

auf das Verhalten einer zwischen Eiweiß und Farbsäure entstandenen Adsorptionsverbindung gegen die Einwirkung der Hitze zurückzuführen sind. Man könnte nämlich den Einwand erheben, daß, wenn aus den verwendeten Farbsalzen die Farbsäure vom Eiweiß adsorbiert ist, das jetzt frei gewordene Alkali seinerseits das Eiweiß in durch Hitze nicht koagulables Alkalialbuminat verwandelt. Wenn auch die Mengen Alkali, die bei der Adsorptionsreaktion entstehen werden, nicht ausreichend erscheinen, um diese Wirkung hervorzurufen, so sollte doch noch versucht werden, den Nachweis zu führen, daß allein die Einwirkung einer freien Farbsäure ohne Anwesenheit von Alkali genügt, um die beschriebene Schutzwirkung hervorzurufen.

Dazu diente folgender Versuch:

Aus einer wässerigen Eosinnatriumlösung wird durch Ansäuern mit Salzsäure die Eosinsäure in Freiheit gesetzt und der entstehende Brei mit Toluol ausgeschüttelt. Das nur schwach gelblichrosa gefärbte Toluol, das die freie Eosinsäure enthält, wird abgehoben, und mit dieser Eosintoluollösung (2 Volume) wird die früher benutzte Eiweißlösung (1 Volum) gut durchgeschüttelt. Die Eiweißlösung färbt sich ebenso wie Filtrierpapier, durch das man die Eosintoluollösung filtriert, durch Aufnahme des Farbstoffes tief rot. Von der von dem Toluol getrennten, also mit der freien Eosinsäure tief rot gefärbten Eiweißlösung, Lösung B, wird ein Teil, um seinen Farbstoffgehalt zu steigern, noch einmal in der gleichen Weise mit der Eosintoluollösung behandelt, Lösung A. Ferner wird ein Teil von A mit dem gleichen Volumen der ursprünglich ungefärbten Eiweißlösung verdünnt, Lösung C. Wir haben jetzt also drei Lösungen, die bei gleichem Wasser-, Eiweiß- und Salzgehalt fallende Mengen Farbstoff enthalten.

A enthält am meisten Farbstoff,
B enthält weniger, aber sicher mehr als C,
C enthält halb so viel Farbstoff als A.

Je 3 ccm dieser Lösungen 15 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt, zeigen folgende Niederschlagsmengen:

A 0
B +
C ++++

Damit ist erwiesen, daß es tatsächlich nur der Zusatz der Farbsäure ist, durch welche die Eiweißlösung die Fähigkeit, in der Hitze koaguliert zu werden, verliert.

Der Nachweis, daß Farbstoff bei genügendem Eiweißzusatz mit dem Eiweiß zusammen durch Hitze koaguliert wird, ist schwieriger zu führen und weniger augenfällig. Es ist mir nämlich auch bei mehrfachen Versuchen nicht gelungen, aus einer verdünnten Farbstofflösung, die reichlich Eiweiß enthält, bei Hitzekoagulation allen Farbstoff an das Eiweiß zur Bindung zu bringen, so daß das Filtrat farblos würde. Man sieht aber, daß aus solchen genügend verdünnten Farbstofflösungen, die mit viel Eiweiß versetzt sind, beim Erhitzen stets leicht gefärbte Koagula ausfallen, und filtriert man von diesen nach Auffüllen auf das ursprüngliche Volumen ab, so zeigt sich das Filtrat etwas heller als eine Vergleichslösung des Farbstoffs, die statt mit der Eiweißlösung mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt ist.

Eine Reihe theoretischer Erwägungen, deren Erörterungen hier zu weit führen würde, machen es mir wahrscheinlich, daß nur saure Farbstoffe diese Schutzwirkung zeigen werden, und ich habe mich deshalb bei den oben beschriebenen Versuchen auf diese beschränkt. Ich kann hinzufügen, daß es mir bei einigen Versuchen mit basischen Farbstoffen auch nicht gelungen ist, ähnliche Schutzwirkungen zu erzielen.

Kurz zusammengefaßt zeigen diese Versuche, daß saure Farbstoffe oder ihre freien Farbsäuren, zu Eiweißlösungen in genügender Menge zugesetzt, diese ihrer Hitzekoagulierbarkeit berauben. Diese Erscheinung findet ihre Erklärung in der Annahme, daß sich Eiweißkörper und Farbstoffe nach Art von (entgegengesetzt geladenen) Kolloiden zu Komplexen vereinigen, wobei der Farbstoff auf das Eiweiß als „Schutzkolloid“ im weitesten Sinne wirkt.

Notiz über die stickstoffhaltigen Harnbestandteile.

Von

Adolf Jolles.

(Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. M. und Dr. Ad. Jolles in Wien.)

(Eingegangen am 28. Juli 1907.)

Wird Harn im Azotometer mit Bromlauge behandelt, so wird nicht allein der gesamte Stickstoff des Harnstoffs und des Ammoniaks, sondern auch ein Teil des Stickstoffs gewisser anderer Substanzen, z. B. der Harnsäure, in Gasform in Freiheit gesetzt. Wird aber der Harn vorher in schwefelsaurer Lösung nach einem von mir früher beschriebenen Verfahren mit Permanganat oxydiert[1]), hierauf neutralisiert und in der resultierenden Flüssigkeit eine Stickstoffbestimmung mit Bromlauge ausgeführt, so erhält man höhere Zahlen. Die Differenz entspricht dem Stickstoffgehalt jener Substanzen, welche an und für sich durch Bromlauge keinen Stickstoff oder nur einen Teil des Stickstoffes abspalten, hingegen durch Oxydation in Harnstoff oder Ammoniak übergeführt werden. Ein derartiges Verhalten weisen von den bekannten Harnbestandteilen folgende auf: Harnsäure, Allantoin, Hippursäure, Oxalursäure, ferner Eiweißkörper und Purinbasen[2]), deren Stickstoff der Hauptmenge nach volumetrisch bestimmbar ist. Man sollte also annehmen, daß die Differenz zwischen volumetrischem Stickstoff vor und nach der Oxydation dem Gehalte des Harnes an den oben angeführten Substanzen ungefähr entspricht. Vergleicht man nun die durch die Oxydation noch entwickelte und nachweisbar gemachte N-Menge mit dem N-Ge-

---

[1]) Ersatz für die Kjeldahl-Bestimmung im Harn für klinische Zwecke. Centralbl. f. inn. Med. **1901**, Nr. 30.

[2]) Beiträge zur Kenntnis der Purinbasen. Von A. Jolles. Journ. f. prakt. Chemie. Neue Folge, Band 62.

halt der in der betreffenden Harnprobe gleichzeitig bestimmten **Harnsäure**, so ersieht man, daß diese nur einen ganz geringen Bruchteil jener Differenz deckt. Nachdem die Methodik der Harnsäurebestimmung als zuverlässig angesehen werden kann, und die übrigen oben angeführten, bei der volumetrischen N-Bestimmung im oxydierten normalen Harn in Betracht kommenden Substanzen nach unseren bisherigen Kenntnissen nur in minimalen Quantitäten vorhanden sind, so läßt sich der große Betrag an Stickstoff, der nach Abzug der bekannten Harnbestandteile übrig bleibt, nur dadurch plausibel machen, daß im Harne noch andere zu Harnstoff oder Ammoniak oxydierbare Substanzen vorhanden sind, die wir entweder nicht kennen, oder deren Mengen wir zu niedrig taxieren. Denn die Mengen von Purinbasen, Oxalursäure, Allantoin und selbst proteinartigen Körpern, wie sie in der Literatur für normale Harne angegeben sind, reichen nicht im entferntesten aus, um den gefundenen N-Gehalt der oxydablen Körper zu rechtfertigen. Es ergibt sich also dieselbe Schlußfolgerung, wie bereits Pfaundler (Zeitschr. f. physiol. Chemie **30**, 74) bei einer anderweitigen Zersetzung des Harnes ausgesprochen hat, daß ein ungedeckter Rest bleibt, dessen Bedeutung weitere Untersuchungen aufklären müssen.

Kurze Beschreibung der Methodik.

1. Der Gesamtstickstoff wird nach Kjeldahl bestimmt: 5 ccm Harn werden mit 20 ccm Phosphor-Schwefelsäure bei Gegenwart eines Tropfens Hg aufgeschlossen und dann destilliert.

2. Volumetrische N-Bestimmung: 5 ccm Harn werden mit 5 ccm destilliertem Wasser verdünnt und hiervon 5 ccm im Azotometer mit Bromlauge behandelt. (Vgl. Zeitschr. f. anal. Chemie **39**, 144).

3. Oxydation des Harnes und volumetrische N-Bestimmung im oxydierten Harne: 5 ccm Harn werden zunächst mit 5 ccm destilliertem Wasser versetzt. Hiervon werden 5 ccm entnommen, mit destilliertem Wasser auf ca. 150 ccm verdünnt und nach Zusatz von 2 ccm konzentriertem H_2SO_4 (spez. Gew. 1,84) bis zum Kochen erwärmt. Dann fügt man kubikzentimeterweise von einer Permanganatlösung, welche 8 g $KMnO_4$ pro Liter enthält, allmählich so viel hinzu, bis nach ca. ½stündigem Kochen der letzte Permanganatzusatz nicht mehr verschwunden

ist[1]). Hierauf wird mit einigen Tropfen Oxalsäure entfärbt; nach dem Erkalten wird durch allmählichen Zusatz von 10 ccm Natronlauge von 32° Bé die Flüssigkeit unter Kühlen neutralisiert, dann in das Schüttelgefäß des Azotometers gespült und der N mit Bromlauge bestimmt.

4. Bestimmung der Harnsäure nach Salkowski-Ludwig und zur Kontrolle nach Jolles. (Vgl. Zeitschr. f. anal. Chemie 41, 350.)

Von meinen zahlreichen Versuchen lasse ich nachstehend eine Anzahl tabellarisch folgen:

Laufende Nummer	Spez. Gewicht bei 15° C	Stickstoff, volumetrisch pro Liter Harn g	Stickstoff nach der Oxydation pro Liter g	Harnsäure pro Liter g	Gesamtstickstoff nach Kjeldahl pro Liter g	N-Differenz vor und nach der Oxydation	N-Differenz in Prozenten des volumetrischen und des nach der Oxydation gefundenen Stickstoffes	Pathologische Bestandteile.
1	1,0265	12,64	14,57	0,758	14,88	1,93	13,24	—
2	1,022	9,57	10,05	0,599	10,48	0,48	4,77	—
3	1,018	6,73	8,56	0,438	8,57	1,83	21,37	—
4	1,029	14,53	15,66	0,758	16,22	1,13	7,21	—
5	1,0265	11,31	13,41	0,867	14,17	2,10	15,66	—
6	1,027	13,74	15,11	0,450	15,96	1,37	9,06	—
7	1,026	18,07	19,79	0,997	19,81	1,72	8,69	—
8	1,021	7,60	8,15	0,425	8,55	0,55	6,74	—
9	1,036	2,84	3,77	0,201	3,79	0,93	24,66	Der Harn enthält 6,2 % Dextrose u. Spur. Aceton
10	1,0225	10,45	11,27	0,426	11,29	0,82	7,27	—
11	1,018	8,74	10,80	0,208	10,87	2,06	18,88	—
12	1,0315	10,22	13,34	0,867	13,52	3,12	23,38	—
13	1,014	5,71	6,13	0,117	6,23	0,42	6,85	Der Harn enthält Albumin: 1,02 g pro Liter.
14	1,013	4,20	5,32	0,104	5,69	1,12	21,05	Albumin 1,46 g pro Liter
15	1,017	6,47	7,71	0,317	7,94	1,24	16,08	—
16	1,019	3,58	4,61	0,145	4,86	1,03	22,34	{ Dextrose 1,8 %, Albumin 0,07 %
17	1,019	2,90	3,66	0,274	3,93	0,76	20,76	Der Harn enthält Gallenfarbstoffe
18	1,030	7,16	8,85	0,219	8,88	1,69	19,09	Der Harn enthält 2,2 % Dextrose

[1]) In der Regel schwankte der Zusatz von Permanganat bei zuckerfreien und eiweißfreien Harnen zwischen 8 bis 13 ccm Permanganatlösung.

Untersuchungen über die Erzeugung hochwertiger Muskeleiweiß-Antisera für die Fleischdifferenzierung.

Von

W. A. Schmidt.

(Aus der chemischen und gerichtschemischen Abteilung der Government School of Medicine, Cairo, Ägypten.)

(Eingegangen am 30. Juli 1907.)

Uhlenhuth[1]) hat als erster den experimentellen Nachweis erbracht, daß das von ihm ausgearbeitete Verfahren der Blutdifferenzierung mit Hilfe spezifischer Sera ebenfalls für die Differenzierung von Fleischarten verwendet werden kann, da in jedem Fleisch ja mehr oder weniger Blut vorhanden ist. Für die Fleischkontrolle ist dies biologische Verfahren von um so größerer Bedeutung geworden, als die bisher angewandten chemischen Erkennungsmittel von Fleischarten sich für die Praxis als ganz unzulänglich erwiesen haben; besonders wenn es sich darum handelt, eine bestimmte Fleischart in einem Gemisch (Hackfleisch) nachzuweisen, lassen die chemischen Methoden uns bekanntlich gänzlich im Stich. Das biologische Verfahren ermöglicht es dagegen, jede Fleischart mit Bestimmtheit festzustellen und somit minderwertige Sorten — in europäischen Ländern kommt wohl nur Pferdefleisch in Betracht[2]) — selbst im Gemisch mit anderem Fleisch mit Sicherheit nachzuweisen.

---

[1]) Uhlenhuth, Deutsche med. Wochenschr. **1901**, 499 u. 780; Deutsche tierärztl. Wochenschr., 11. Jahrg., Nr. 16. — **Jeß hat dann als erster die Uhlenhuthschen Versuche für die Fleischkontrolle praktisch** verwertet. Berl. tierärztl. Wochenschr. **1901**, Nr. 42.

[2]) In Ägypten spielt in dieser Beziehung das Kamelfleisch die größte Rolle.

Es haben sich dann verschiedene Forscher bemüht, das biologische Verfahren speziell für den Zweck der praktischen Fleischdiagnostik weiter auszuarbeiten. Mit Recht erwartete man durch Vorbehandlung der Kaninchen mit Fleischpreßsäften und Auszügen Sera zu erzielen, welche sich gegenüber den zu untersuchenden Fleischauszügen noch wirksamer erweisen würden als die bisher angewandten, durch Injektion von Blutserum erzeugten Antisera. Auf diese Möglichkeit wies schon Uhlenhuth[1]) hin, indem er sagte: „*Ob die Reaktion noch intensiver wird, wenn man für die Vorbehandlung der Kaninchen statt des Blutes einen Fleischauszug der betreffenden Tiere oder auch beide verwendet, müssen weitere Versuche zeigen.*"

Über die Erzeugung solcher in der Fleischkontrolle zu verwendenden Antisera durch Injektionsmaterial, welches hauptsächlich Muskeleiweißstoffe enthält, liegen verschiedene Arbeiten vor. Da ich für bestimmte Zwecke ein solches Muskeleiweiß-Antiserum benutzen wollte, habe ich bei den Darstellungsversuchen Gelegenheit genommen, die diesbezüglichen Angaben einer gründlichen Nachprüfung zu unterziehen, wobei sich herausstellte, daß die bisher angegebenen Verfahren alle, zum mindesten für die Praxis, ganz ungeeignet, ja zum Teil sogar falsch sind. Es mag sich hieraus erklären, daß Muskeleiweiß-Antisera (wenigstens meines Wissens) in der Praxis bisher nicht angewandt worden sind. Es ist mir nun gelungen, diese für die Fleischkontrolle zweifellos wichtige Frage der Darstellung eines hochwertigen Serums, welches sowohl auf Blut als auch auf Muskeleiweiß reagiert, zu lösen, und zwar in solch einfacher und leicht ausführbarer Weise, daß der Anwendung dieser Sera in der Praxis jetzt nichts mehr im Wege steht.

Die hierüber veröffentlichten Angaben sind folgende:

Nötel[2]) unternahm Immunisierungsversuche mit Pferdemuskelpreßsaft, gewonnen durch sofortiges Auspressen von Fleischstücken durch

---

[1]) Uhlenhuth, Deutsche med. Wochenschr. **1901**, 780.

[2]) Nötel, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. **1902**, 373. — Vergleiche auch v. Riegler (Österr. Chem.-Ztg. **1902**, Nr. 5), der wässerige Extrakte von Fleisch subcutan injizierte. Ferner Vallée et Nicolas (Bulletin de la soc. centrale de méd. vétér. **21**, N. S., 293). Diese Autoren haben Nötels Versuche bestätigt.

nasse Koliertücher in einer Preßmaschine; ferner mit Auszügen von zerkleinertem Pferdefleisch mit 0,1 prozentiger Sodalösung.[1]) Nötel hat diese Flüssigkeiten unfiltriert (subcutan) injiziert und gibt an, daß irgend welch erheblichere örtliche oder gar Allgemeininfektion sich nicht gezeigt habe. Die Herstellung eines keimfreien Filtrates durch Berkefeldfiltration hat Nötel, wie dieser Autor sagt, abgesehen von der Umständlichkeit, hauptsächlich aus dem Grunde vermieden, weil er befürchtete, das Filter könne wirksame Eiweißstoffe zurückhalten. Nötel erhielt mit diesen Injektionsflüssigkeiten Antisera, welche mit Muskelpreßsaft eine nicht unbeträchtlich stärkere Reaktion gaben als ein mit Pferdeserum hergestelltes Antiserum. Ganz ähnliche Versuche sind von Ruppin[2]) veröffentlicht worden.

Diese Angaben habe ich nachgeprüft, nur mit der Abänderung, daß ich Preßsaft von Menschen- und Rinder- anstatt Pferdemuskel verwandte. Das Injektionsmaterial wurde mit größter Sorgfalt jedesmal frisch hergestellt und zur Vorsicht — da die Herstellungsweise von vornherein eine genügende Keimfreiheit nicht verbürgte — nicht in die Bauchhöhle, sondern unter die Rückenhaut gespritzt. Meine Versuche sind aber gänzlich mißlungen, denn alle Tiere gingen an der Behandlung zugrunde. Obgleich ich, im Gegensatz zu Nötel, der in 3—4 tägigen Intervallen 10 ccm einspritzte, die Injektionen nur alle 4—5 Tage vornahm und die Dosen mit 4 ccm begann, starben von 15 Kaninchen, die für diese Versuche nach und nach in Arbeit genommen wurden, die meisten schon nach der dritten oder vierten Injektion. Untersuchen konnte ich das Serum von nur zwei Tieren, die trotz des Krankseins die vierte resp. fünfte Injektion überstanden hatten, für die Weiterbehandlung aber zu krank waren. Das Serum dieser beiden Kaninchen erwies sich als unwirksam; es hatten sich, wohl infolge

---

[1]) Nötel ließ das Fleisch mit der Sodalösung 3 Stunden bei 37° stehen.

[2]) Ruppin, Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel **1902**, I, 356. Ruppin beobachtete größte Vorsicht, den Preßsaft möglichst keimfrei zu erhalten. Das Fleisch wurde steril entnommen, dann 10 Minuten unter Alkohol gehalten und die äußeren Partien mit einem sterilisierten Messer abgeschnitten. Der Kern wurde in einer sterilisierten Hackmaschine zerkleinert und dann in einer sterilisierten Fleischpresse ausgepreßt. Ein Kaninchen wurde mit diesem Preßsaft, ein anderes mit einem Fleischauszug vorbehandelt, welcher aus dem gehackten Fleisch mittels sterilisierten Leitungswassers (6 stünd. Stehen bei niedriger Temperatur) und nachherigem gelinden Auspressen gewonnen war.

der Krankheit, weder Muskel- noch Bluteiweißpräcipitine gebildet[1]).

Da letztere Versuche hier in den schon ziemlich heißen Monaten April und Mai (1906) vorgenommen wurden, schrieb ich anfänglich meine Mißerfolge dem Klima zu, wenn ich auch bei anderen Immunisierungsversuchen, selbst während der heißesten Jahreszeit, selten über Tierverluste zu klagen hatte. Ich ersehe indessen aus einigen Literaturangaben, daß ich mit meinen negativen Resultaten nicht vereinzelt dastehe. Grund[2]), welcher hauptsächlich Immunisierungsversuche mit Organpreßsäften vornahm, seine Versuche aber auch auf das Muskeleiweiß ausdehnte, schreibt hierüber bezeichnenderweise: „*Spezifisch toxisch schien mir nur der Muskelpreßsaft zu wirken, nach dessen Injektionen ich so zahlreiche Tierverluste hatte, daß ich die diesbezüglichen Versuche aufgab. Es stimmt dies mit einer diesbezüglichen Angabe von Ascoli überein.*" Ascoli[3]) gelang es nicht, für Ochsenfleisch ein spezifisches Serum zu erhalten. „*Die injizierten Kaninchen gingen rasch zugrunde infolge augenscheinlicher giftiger Eigenschaften des injizierten Materials*," sagt Ascoli. Ferner hat Piorskowski Versuche mit Fleischpreßsaft angestellt; er schreibt hierüber folgendes: „*Es ist sehr schwierig, zur Injektion Fleischpreßsaft zu verwenden, da hierbei eine große Anzahl von Tieren zugrunde geht, welcher Umstand auf die in dem Fleischauszuge enthaltenden Toxalbumine zurückzuführen sein dürfte.*" Piorskowski gab infolgedessen seine Preßsaftversuche auf und wandte sich zwecks Darstellung eines Muskeleiweiß-Antiserums einem anderen Verfahren zu. (Vergl. unten).

Die Angaben letztgenannter Autoren und meine eigenen eben erwähnten Versuche zeigen deutlich, daß die Immunisierung gegen Preßsaft in der bisher angewandten Weise, trotz der scheinbaren Erfolge von

[1]) Schon nach der zweiten oder dritten Injektion zeigten sich am Bauch aller vorbehandelten Kaninchen große, unbehaarte Geschwulste, die zweifellos durch Senkung der unter die Rückenhaut eingespritzten Fleischlösungen entstanden waren. Anfangs hatte ich nur mit Menschenmaterial gearbeitet, da mir daran lag, ein spezifisches Menschenmuskelserum herzustellen. Spätere Versuche mit Rinderpreßsaft zeigten, daß dieser von den Kaninchen ebenso schlecht vertragen wurde.

[2]) Grund, Deutsches Arch. f. klin. Med. **87**, 157, 1906.

[3]) Ascoli, Biochem. Centralbl. **2**, 227 (Autoreferat).

Nötel, Ruppin und anderen, in der Praxis kaum durchführbar ist.

Nach diesen Mißerfolgen mit Preßsaft hoffte ich auf anderem Wege ein Muskeleiweiß-Antiserum darzustellen, und zwar nach einem Verfahren, welches Piorskowski[1]) auf Grund von Angaben Schützes[2]) ausgearbeitet hat. Nach Schütze soll es gelingen, durch Vorbehandlung von Kaninchen mit einem (nach Blumenthals Vorschrift) mittels eingreifender chemischer Prozesse aus Muskelfleisch gewonnenen Eiweißpräparate ein Serum zu erzeugen, welches die Injektionssubstanz zur Ausfällung bringt und auch hämolytische Wirkung zeigt. Piorskowski hat diese Versuche angeblich nicht nur bestätigt, sondern sogar erheblich erweitert, denn er hat dieses, durch Injektion von chemisch stark veränderten Eiweißstoffen erzeugte Serum auch für die Differenzierung frischer Fleischwaren verwandt.[3]) Ich habe trotz der eingehendsten Versuche die Schützeschen Angaben nur zum Teil bestätigen können; erst nach langer vergeblicher Mühe gelang es mir, ein äußerst schwaches Serum zu erhalten. Die Piorskowskischen Angaben beruhen jedoch, wie ich auf Grund meiner mannigfachen Versuche annehmen muß, entschieden auf einem Irrtum: Die Unterscheidung nativer Eiweißstoffe (Auszüge aus frischem Muskelfleisch) mit Hilfe eines solchen Serums ist unmöglich. — Über meine diesbezüglichen Versuche werde ich im Zusammenhang mit anderen demnächst ausführlicher berichten.

Nachdem somit auch das Verfahren von Piorskowski sich als unbrauchbar erwiesen hatte, nahm ich nochmals Versuche mit Preßsaft vor. Vor allem lag mir daran, die Ursache der zweifellos stark toxischen Eigenschaft des Preßsaftes, woran ja alle bisherigen Versuche scheiterten, zu ergründen und, wenn möglich, zu beseitigen. Dies ist mir nun auf sehr einfache Weise gelungen, nämlich durch Berkefeldfiltration des Preßsaftes. Die bisherigen Mißerfolge sind daher einzig und allein der Tatsache zuzuschreiben, daß alle Autoren ver-

[1]) Piorskowski, Ber. d. deutsch. pharmaz. Ges., 12. Jahrg., **1902**, Heft 1; Centralbl. f. Bakt., I. Abt., **31**, 550, 1902.

[2]) A. Schütze, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. **38**, 487, 1901.

[3]) Piorskowski, l. c.

schiedener Gründe wegen darauf bestanden, den Preßsaft unfiltriert zu injizieren. Der doch so naheliegende Gedanke, das Injektionsmaterial durch Filtration keimfrei zu machen, ist sonderbarerweise bisher von niemandem in Ausführung gebracht worden. Die Gründe waren wohl erstens die Umständlichkeit, denn der Preßsaft filtriert in der Tat äußerst langsam, zweitens die Befürchtung, das sich schnell verstopfende Filter könne wirksame Eiweißstoffe zurückhalten. Auch mag man wohl unter der Voraussetzung, das Muskeleiweiß sei an sich giftig — Piorskowski glaubt, es handle sich um Toxalbumine —, bessere Resultate auch mit filtriertem Saft nicht erwartet haben. Meine folgenden Versuche beweisen, daß diese Vorurteile ganz unberechtigt sind: Die Berkefeldfiltration ist verhältnismäßig leicht durchführbar, auch wird der Saft, wie meine Versuche zeigen, durch die Filtration nicht allzusehr geschwächt. Vor allem aber wird der filtrierte Saft von den Kaninchen ausgezeichnet vertragen. Die giftige Eigenschaft des unfiltrierten Preßsaftes beruht daher nicht auf Toxalbuminen, sondern allein auf Bakterien, die sich im Muskelfleisch ja bedeutend schneller entwickeln als im stark bactericiden Blutserum.

Selbst wenn es nach den Angaben von Nötel und Ruppin, bei Beobachtung größter Vorsicht, gelingen mag, auch mit unfiltriertem Injektionsmaterial die Kaninchen durchzubringen, so geht doch aus dem Vergleich meiner untenstehenden Versuche mit denen von Nötel und Ruppin deutlich hervor, daß die Immunisierung mit filtriertem Preßsaft, trotz seines geringeren Eiweißgehalts, erstens viel schneller vor sich geht als mit unfiltriertem, und zweitens bedeutend hochwertigere Sera liefert als letzterer. Dies ist zweifellos dadurch zu erklären, daß der filtrierte Saft, infolge seiner Keimfreiheit, vorzüglich vertragen wird, was sicherlich die Antikörperbildung begünstigt. Dagegen verursacht der unfiltrierte Saft, auch wenn er bei Beobachtung aller zeitraubenden Vorsichtsmaßregeln möglichst keimfrei gewonnen wurde, immer Krankheitserscheinungen[1]), wodurch die Antikörperbildung, vorausgesetzt, daß die Tiere überhaupt durchgebracht werden können, jedenfalls stark

---

[1]) Dies geht deutlich aus den Aufzeichnungen Ruppins hervor.

beeinträchtigt wird. Der Preßsaft ist eben ohne Filtration, trotz aller Vorsichtsmaßregeln bei der Fleischentnahme usw., nicht keimfrei zu erhalten.

Meine Versuche mit filtriertem Saft wurden nun in folgender Weise vorgenommen. Wie schon erwähnt, habe ich besonderer Gründe wegen mit Menschenmaterial gearbeitet. Der Preßsaft wurde für jede Injektion frisch aus möglichst fettfreiem Muskelfleisch gewonnen, welches 2—12 Stunden alten Leichen entnommen wurde.[1]) Peinliche Sorgfalt bei der Auswahl der Leichen war, wie sich bald herausstellte, gar nicht nötig; selbstverständlich aber wurde offenbar pathologisches Material gemieden. Das Fleisch wurde nun direkt, ohne Zerkleinerung, in einer (nicht sterilisierten) Fleischpresse ausgepreßt und dann durch ausgekochte Berkefeldkerzen filtriert. In Ermangelung einer besseren genügt schon die kleine Küchenpresse von Dr. Klein (Alexanderwerk). Aus einem Kilo Fleisch erhält man mit dieser primitiven Presse bei einiger Geduld etwa 200 ccm Saft. Mit wirksameren Pressen[2]) geht die Arbeit natürlich schneller vonstatten, und man erhält mit Leichtigkeit die doppelte Menge. Zum Filtrieren des Saftes verwende ich die kleinen 4—6 cm langen Berkefeldkerzen (Lautenschläger Nr. 688c).[1]) Wegen der langsamen Filtration des Saftes werden am besten gleich zwei

---

[1]) Für die freundliche Überlassung des Leichenmaterials bin ich meinen Kollegen, Prof. Ferguson und Dr. White, zu großem Dank verpflichtet.

Ich will noch bemerken, daß ich auch für die Erzeugung von Blutantiserum seit Jahren Leichenblut verwende (Ziemke, Nuttall), welches mir hier infolge der Nähe des großen Regierungshospitals Kasr El Eini reichlich zur Verfügung steht. Über meine diesbezüglichen Erfahrungen will ich nur kurz bemerken, daß ich eine nachteilige Wirkung des von mir angewandten, durch Berkefeldkerzen filtrierten Leichenblutserums nie konstatiert habe. Die Kaninchen vertrugen das filtrierte Leichenserum durchweg ausgezeichnet. Ich erwähne dies, weil einige Autoren das Gegenteil beobachtet haben wollen und aus diesem Grunde Leichenmaterial meiden. Vielleicht haben diese Autoren aber nicht filtriertes Serum, sondern defibriniertes Leichenblut injiziert.

[2]) Ich kann für diese Zwecke die Fleischpresse „F L" Nr. 1 der Firma Duchscher & Co., Wecker, sehr empfehlen. Diese Presse (Nr. 1) kann mit einem Behälter von 110 mm geliefert werden, wodurch ein Druck von 150 kg pro Quadratzentimeter erreicht wird. Die Presse wird von der Firma F. Hugershoff, Leipzig, geliefert. Preis ca. 150 Mk.

dieser Filter mit Saft gefüllt und an die Saugpumpe angeschlossen. Nach mehreren Stunden, spätestens am nächsten Morgen, ist genügend Filtrat für die Injektion von 6—8 Kaninchen (à 10 ccm) vorhanden. Wenn auch vielleicht ein einziges Filter genügen würde, so ziehe ich es doch vor, gleich zwei oder drei zu verwenden, um somit einer Schwächung des Filtrats an Eiweiß durch die sich schnell verstopfenden Kerzen nach Möglichkeit vorzubeugen.

Der filtrierte Saft ist vollkommen klar; nach längerem Stehen wird er aber trübe und es bildet sich ein Bodensatz. Um einen Anhalt über den Eiweißgehalt des Preßsaftes zu haben, dampfte ich Proben davon, sowohl vor als nach der Filtration, auf dem Wasserbade ein. Der unfiltrierte Saft ergab 11—12%, der filtrierte 6,5—7,5% Trockenrückstand. Der filtrierte Saft ist somit nicht viel weniger eiweißhaltig als Blutserum.

Dieser sterile Saft wurde nun alle 3—5 Tage, jedesmal frisch gewonnen, in einer Menge von 10 ccm eingespritzt. Da ich auch jetzt noch das Eingehen einiger Tiere befürchtete, nahm ich gleich 8 Kaninchen in Vorbehandlung. Der filtrierte Saft wurde aber ausgezeichnet vertragen, jedenfalls ebensogut wie Blutserum. In auffallendem Gegensatz zu den Versuchen mit unfiltriertem Saft ging kein einziges der 8 Kaninchen zugrunde, auch stellten sich nicht die geringsten Krankheitserscheinungen ein. Die meisten Tiere nahmen sogar an Gewicht zu; der beste Beweis, daß die Muskeleiweißstoffe und auch die Fleischbasen unter diesen Versuchsbedingungen keine nachteilige Wirkung ausüben.

Die erste Probeblutentnahme wurde 5 Tage nach der 4. Injektion vorgenommen, wobei sich herausstellte, daß das Serum von 3 Kaninchen schon so wirksam war, daß diese Tiere nicht weiter behandelt zu werden brauchten. Sie wurden 5 Tage später, also 10 Tage nach der 4. Injektion, entblutet und das durch sterile Berkefeldkerzen filtrierte Serum getrennt aufbewahrt. Das Serum eines dieser 3 Kaninchen war ganz besonders hochwertig. Von den anderen 5 Tieren konnten 2, nach weiteren zwei resp. drei Injektionen, auf dieselbe Höhe gebracht werden.

---

[1]) Porzellanfilter sind hierzu selbstverständlich ganz ungeeignet.

Um die Wirkungsweise dieses Preßsaft-Antiserums zu studieren (ich nahm hierzu das hochwertigste), wurde es mit 2prozentigen Lösungen (in 0,7% NaCl) von filtriertem Preßsaft aus Menschen-, Pferde- und Rindermuskel sowie von Menschenblutserum geprüft. Dieselben Lösungen wurden zum Vergleich auch mit einem hochwertigen Menschenblut-Antiserum versucht. Um ein Bild der Reaktionen zu geben, will ich die nach 24 Stunden abgelesene Höhe des Bodensatzes angeben, welcher sich in den von mir benutzten 6 mm weiten Röhrchen gebildet hatte. Bei jedem Versuch wurden 5 Tropfen (30 = 1 ccm) der Antisera je 2 ccm der Versuchslösung zugesetzt. Das Verhältnis der Volumina war demnach ungefähr 1 : 12 bis 1 : 15. Die Lösungen waren vollkommen klar. Sämtliche Versuche wurden bei Zimmertemperatur vorgenommen.

Prüfung des Preßsaft-Antiserums.

1.	2proz. Lsg. v. Menschenmuskel-Preßsaft (fast blutfrei!).	+ Menschen-Preßsaft-Antiserum.	Momentane, sehr starke Reaktion. Höhe des Bodensatzes nach 24 Stunden = 6 mm.
2.	dito	+ Menschenblut-Antiserum.	Nur schwache Trübung. Höhe des Bodensatzes nach 24 Stunden = 0,5 mm.
3.	2proz. Lösung von Menschenblutserum.	+ Menschen-Preßsaft-Antiserum.	Momentane, sehr starke Reaktion. Höhe des Bodensatzes nach 24 Stunden = 5 mm.
4.	dito	+ Menschenblut-Antiserum.	Momentane, sehr starke Reaktion. Höhe des Bodensatzes nach 24 Stunden = 6 mm.
5.	2proz. Lösung von Rindermuskel-Preßsaft.	+ Menschen-Preßsaft-Antiserum.	Blieb vollkommen klar.
6.	2proz. Lösung von Pferdemuskel-Preßsaft.	+ dito.	dito
7.	dito	ohne Zusatz	dito

Über den Verlauf dieser Reaktionen will ich zuerst folgendes bemerken: Beim Versuch 2, Preßsaft und Blutantiserum, trat nur eine schwache Trübung ein; erst am nächsten Tage war der verzeichnete geringe Bodensatz wahrzunehmen. Es muß aber bemerkt werden, daß der Preßsaft für diesen Versuch absichtlich aus besonders blutfreiem Fleisch gewonnen

war. Die Reaktionen 1, 3 und 4 waren dagegen so intensiv, daß die momentan hervorgerufene starke Trübung sich, noch ehe die Versuchsreihe zu Ende geführt war, in Flocken verwandelte, welche schon nach wenigen Minuten einen voluminösen Niederschlag bildeten. Die oben angegebene Höhe desselben wurde nach 24 Stunden, nachdem das Präcipitat auf das Minimum zusammengeballt war, abgelesen. Röhrchen 5 und 6, Pferde- und Rindermuskel- und Menschenmuskel-Antiserum, blieben stundenlang vollkommen klar. Am nächsten Tage war zwar eine Trübung wahrzunehmen, diese war jedoch nicht intensiver als in Röhrchen 7, der Preßsaftlösung ohne Zusatz. Nach einiger Zeit werden eben alle Preßsaft lösungen, je nach der Konzentration, mehr oder weniger trübe. Ein Bodensatz war in diesen Röhrchen selbst nach 24 Stunden nicht vorhanden.

Aus diesen Resultaten sind folgende Schlüsse zu ziehen:

Aus dem Vergleich der Versuche 1 und 2 geht in eklatanter Weise hervor, daß der filtrierte Preßsaft im Tierkörper in hohem Maße Muskeleiweißpräcipitine erzeugt hat. Denn während das Blutantiserum mit dieser fast blutfreien Preßsaftlösung naturgemäß nur schwach zu reagieren vermag, bringt das Preßsaft - Antiserum eine starke Fällung hervor. Es ist bedeutsam, daß dieses hochwertige Serum mit filtriertem Saft schon nach 4 Injektionen erhalten werden konnte, während Nötel und Ruppin zur Darstellung ihrer viel schwächeren Sera den unfiltrierten Saft 10—12mal injizieren mußten.

Der Vergleich von Versuchen 1 und 3 zeigt nun ferner eine beachtenswerte Tatsache: Das Preßsaft-Antiserum hat nicht nur die Fähigkeit, Muskeleiweiß zu fällen, sondern es reagiert auch stark auf Bluteiweiß. Ja, dieses Preßsaft-Antiserum ist fast ebenso hochwertig an Bluteiweißpräzipitinen als das oben angewandte, sehr wirksame Blutantiserum (Versuche 3 und 4). Dies ist auffällig. Denn wenn auch vorauszusehen war, daß der Preßsaft, infolge seines Blutgehalts, auch Bluteiweißpräcipitine bilden würde, so ist es doch beachtenswert, daß die relativ geringe Menge von Blut, welche sich im normalen Muskel befindet, imstande ist, schon nach vier intraperitonealen Injektionen von je 10 ccm ein solch hochwertiges Blutantiserum zu erzeugen. Dieser Punkt soll noch weiter untersucht werden. Jedenfalls ist, wie ich nebenbei bemerken will, hieraus die Konsequenz zu ziehen, daß man für die Darstellung der Blutantisera für die forensische Praxis, in Ermangelung von Blutserum, ebensogut filtrierten Muskelpreßsaft verwenden kann.

Nachdem nun Versuche 1 und 2 bewiesen haben, daß das Muskeleiweiß vom Bluteiweiß derselben Tierart biologisch streng verschieden ist, mußte noch die Frage geprüft werden, wie sich das Muskeleiweiß verschiedener Tierarten biologisch zueinander verhält. Versuche 1, 5 und 6 zeigen nun, daß das Menschenmuskelpräcipitin nur das Muskeleiweiß vom Menschen ausfällt, sich gegen Pferde- und Rindermuskeleiweiß aber völlig indifferent verhält. Das Muskeleiweiß verschiedener Tierarten kann daher, ebenso wie das Bluteiweiß, biologisch voneinander unterschieden werden. Wenn dies auch bereits den Angaben von Nötel und Ruppin und besonders den ausführlichen Versuchen von Grund über organspezifische Präcipitine zu entnehmen ist, so war doch, hinsichtlich der Tatsache, daß Nötel sowohl wie Ruppin nur mit relativ schwachen Antiseris arbeiteten, und Grund ein Muskeleiweiß-Antiserum nicht dargestellt hat, sondern den Muskelpreßsaft nur mit organspezifischen Seris, welche gegen Bluteiweiß usw. abgesättigt waren, prüfte, eine Nachprüfung dieser Frage mittels meines hochwertigen Serums nicht überflüssig.

Aus obigen Resultaten geht hervor, daß die Immunisierung gegen Preßsaft, die bisher mit großen Schwierigkeiten verbunden war, ja, den meisten Autoren überhaupt nicht gelang, sogar mit bestem Erfolg durchgeführt werden kann, sobald eine einfache Vorsichtsmaßregel beobachtet wird: Es ist nur nötig, das Injektionsmaterial filtriert zu verwenden. Der filtrierte Saft wird im Gegensatz zum unfiltrierten von den Kaninchen vorzüglich vertragen und erzeugt schon nach wenigen intraperitonealen Injektionen ein Serum, welches nicht nur reich an Muskeleiweiß-, sondern auch an Bluteiweißpräcipitinen ist.

Abgesehen davon, daß die Erzeugung hochwertiger Sera überhaupt erst mit filtriertem Saft gelingt, ist das Arbeiten mit diesem auch bei weitem bequemer als mit unfiltriertem. Alle lästigen, zeitraubenden Vorsichtsmaßregeln, wie sterile Entnahme des Fleisches, Zerkleinerung und Auspressen desselben in sterilisierten Apparaten (Ruppins Versuche) sind, wenn der Saft filtriert wird, ganz überflüssig. Ich gebe zu, daß die Filtration allerdings äußerst langsam vonstatten geht, doch wird dies kaum als Nachteil empfunden werden, da die Filter ja genügend lange vor der Injektion angesetzt werden können und eine Überwachung überflüssig ist. Man kann die Filter, wenn nötig, 24 Stunden und länger an der Saugpumpe lassen und das Filtrat, selbst wenn es schwach nach Fäulnis riechen sollte, injizieren, ohne den Kaninchen zu schaden.

Ich brauche kaum darauf hinzuweisen, von welcher Bedeutung diese Preßsaft-Antisera für die praktische Fleischkontrolle sind. Auf Grund ihrer doppelten Reaktionsfähigkeit 1. mit dem Muskeleiweiß und 2. mit dem Bluteiweiß werden sie bei der Untersuchung von Fleisch und Fleischwaren unter allen Umständen mehr leisten als die einfachen Blutantisera. Da die Darstellung hochwertiger Preßsaftsera nach obigen Angaben jetzt ohne weiteres gelingen wird, so sollten diese in der Fleischbeschau von jetzt ab ausschließlich benutzt werden.

Die in der Praxis zu verwendenden Sera sollten mindestens so hochwertig sein, daß sie im oben angegebenen Verhältnis (ca. 1 : 15) einer 2prozentigen Lösung von Preßsaft zugesetzt, sofort eine starke Trübung und schon innerhalb 5 Minuten deutliche Flockenbildung hervorrufen. Sera von dieser Wirksamkeit sind nach meinen Erfahrungen mit Leichtigkeit herzustellen. Meine zu obigen Versuchen benutzten Sera waren sogar bedeutend hochwertiger, denn die verlangte Reaktionsintensität trat, wie besondere Versuche zeigten, noch in einer ½prozentigen Preßsaftlösung auf. Schwache Sera, die erst nach längerer Zeit die Flockenbildung oder gar nur eine Trübung verursachen (Nötels und Ruppins Versuche), werden zwar im Laboratorium bei sorgfältiger Beobachtung und Anstellung entsprechender Kontrollen wohl auch den Zweck erfüllen, in der praktischen Fleischbeschau aber müssen hochwertigere Sera schon aus dem Grunde verlangt werden, weil die zu untersuchenden Fleischlösungen meistens an sich trübe sind und in der Praxis gewöhnlich nicht durch Berkefeldkerzen filtriert, sondern nur durch Papierfilter etwas geklärt werden können. Ferner kommt in Betracht, daß viele Auszüge, besonders solche aus älteren Fleischwaren, trotz der vorangegangenen Klärung, sich bald wieder bedenklich trüben. Wegen dieser Umstände müssen in der Praxis hochwertigere Sera angewandt werden, die imstande sind, schon in wenigen Minuten, ehe die Fleischlösungen Zeit haben sich spontan zu verändern, eine unzweideutige, stark ins Auge fallende Reaktion herbeizuführen.

Es ist nicht meine Absicht, auf die Untersuchung der Fleischwaren selbst näher einzugehen. Die Versuche von Ruppin und

Nötel geben hierüber Auskunft. Ich möchte nur auf eine Fehlerquelle aufmerksam machen, auf die schon Ruppin hinwies. Es ist dies die mehr oder minder saure Reaktion fast aller Fleischauszüge und Preßsäfte. Das Muskelfleisch kann ja unter Umständen bis zu 1% Fleischmilchsäure enthalten. Diese kann nun bei Nichtbeachtung leicht Trugschlüsse veranlassen, denn infolge der Koagulationswirkung der Säure auf das Serumeiweiß wird in solchen stärker sauren Fleischlösungen, wenn sie direkt, ohne Neutralisation, untersucht werden, schon nach Zusatz eines beliebigen Serums eine der spezifischen Reaktion täuschend ähnliche Trübung und auch Fällung eintreten. Um Fehler zu vermeiden, ist es daher durchaus geboten, jeden zu untersuchenden Fleischauszug sorgfältigst auf seine Reaktion zu prüfen und ihn nötigenfalls bis zur schwach alkalischen Reaktion mit verdünnter (ca. 0,1 prozentiger) Sodalösung zu versetzen. Auch kann man, wie einige Autoren[1]) dies getan haben, das Fleisch direkt mit sodahaltiger Kochsalzlösung ausziehen. Ein Überschuß von Alkali — auch Soda — muß jedoch streng vermieden werden, denn dieser würde die Präcipitinreaktion quantitativ beeinträchtigen, d. h. den Niederschlag vermindern. Ich selbst ziehe es vor, als Neutralisationsmittel Magnesiumoxyd zu verwenden, welches mir aus dem Grunde am geeignetsten erscheint, weil seine Schwerlöslichkeit es von vornherein ausschließt, daß die Versuchslösung zu alkalisch wird, was bei sorgloser Anwendung löslicher Alkalien leicht eintreten kann. Für die Herstellung der zu untersuchenden Fleischlösungen habe ich folgendes Verfahren praktisch gefunden und kann dasselbe wegen seiner Einfachheit und Zweckmäßigkeit der Praxis empfehlen. Das zerkleinerte Fleisch — ca. 50 g — wird in einem Erlenmeyerkölbchen oder in einer Reibschale mit ca. 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung, der pro Liter etwa 5 g Magnesiumoxyd[3]) zugesetzt sind, nach Umschütteln der Flasche,

---

[1]) Grund, l. c.

[2]) Nötel, l. c.; Ruppin, l. c.; Schütze, Deutsche med. Wochenschr. **1903**, 62.

[3]) Da Magnesiumcarbonat (oder vielmehr das hieraus entstehende Bicarbonat) leichter löslich ist, so sollte nur das chemisch reine carbonatfreie Magnesiumoxyd verwendet werden.

übergossen und die Masse ab und zu mit einem Löffel oder Glasstab durchknetet. Von dem Überschuß des Magnesiumoxyds wird naturgemäß nur so viel aufgenommen, als zur Neutralisation der im Fleisch vorhandenen Säure nötig ist. Nach etwa 2 Stunden oder längerer Zeit — je nach dem Alter und der Beschaffenheit des Untersuchungsmaterials — preßt man den Inhalt mit den Händen durch ein Flanell- oder Baumwollstoffläppchen und läßt die ausgepreßte Flüssigkeit direkt auf das mit Kochsalzlösung gut angefeuchtete Papierfilter laufen. Die gehärteten Filter (Nr. 575, Schleicher & Schüll) eignen sich wegen ihrer Dichtigkeit hierzu am besten, wenn sie auch langsamer filtrieren als die gewöhnlichen Papiere. Die filtrierte Flüssigkeit ist genügend klar und zeigt eine, der geringen Löslichkeit des Magnesiumoxyds entsprechende, schwach alkalische Reaktion, wie sie für die Präcipitinversuche verlangt werden muß. Die so erhaltene eiweißhaltige Flüssigkeit kann nun direkt oder nach weiterer Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung der Präcipitinreaktion unterworfen werden. Für die Praxis ist es entschieden zu empfehlen, alle zu untersuchenden Fleischlösungen grundsätzlich mit dieser magnesiahaltigen Kochsalzlösung herzustellen. Man umgeht dadurch nicht nur die saure Reaktion der Untersuchungsflüssigkeit, sondern vermeidet zugleich einen Überschuß von Alkali. Beide Fehlerquellen werden also automatisch ausgeschaltet.

Es ist vielleicht nicht überflüssig, wenn ich hier auf eine paradoxe Eigenschaft der Antisera aufmerksam mache, die meines Erachtens in der Praxis nicht die verdiente Beachtung gefunden hat. Es ist dies die rätselhafte Tatsache 1., daß ein Antiserum neben dem Präzipitin auch das zur Vorbehandlung der Kaninchen verwandte (also präcipitable Eiweiß) enthalten kann, ohne daß im Antiserum selbst eine Wechselwirkung zwischen beiden eintritt, und 2., daß dies präcipitable Eiweiß, welches sich im „latenten" Zustande im Antiserum befindet, durch das Präcipitin eines anderen (mit gleicher Blutart vorbehandelten!) Kaninchens ausgefällt wird. Ich machte diese Beobachtung schon vor mehreren Jahren zuerst ganz zufällig, indem ich bei der Feststellung der Wertigkeit der Probesera von sechs mit Menschenserum vorbehandelten Kaninchen einem Röhrchen der Menschenserumversuchslösung (1 : 500) irrtümlich zweimal Antiserum zusetzte, und zwar das von verschiedenen Kaninchen stammende. Da in diesem Röhrchen, im Gegensatz zu den anderen, sofort eine ungewöhnlich starke Reaktion eintrat, woraus sich vermuten ließ, daß die beiden Antisera miteinander reagiert hatten, versuchte ich die sechs Antisera gegeneinander. Es stellte sich hierbei heraus, daß bei allen

Versuchen, zu welchen entweder Antiserum 2 oder 5 mit einem der anderen verwandt wurde, eine starke Reaktion eintrat. Bei den Versuchen 1 und 3, 3 und 4 usw. war dagegen nicht die geringste Wirkung wahrzunehmen. Es waren demnach die Antisera der Kaninchen 2 und 5, welche außer dem Präcipitin noch unverarbeitetes Menscheneiweiß enthielten. Wie ich durch weitere Versuche bei anderen Kaninchenserien feststellen konnte, ist diese Eigentümlichkeit durchaus nichts Seltenes. Dies geht auch zur Genüge aus einigen Angaben anderer Autoren[1]) hervor. Meines Erachtens ist diese Eigenschaft der Antisera aber nicht nur von theoretischem Interesse, sondern sie verdient auch praktische Berücksichtigung. Denn es ist klar, daß solche Sera, wenn sie zusammen bei ein und demselben Versuch angewandt werden, arge Trugschlüsse herbeiführen können. Apriorisch wird der Sachverständige allerdings für ein und denselben Versuch das Antiserum einer einzigen Tube entnehmen und somit, wie es nach obigem verlangt werden muß, nur das von einem Kaninchen stammende Serum verwenden. Doch ist der Fall leicht denkbar — besonders wenn der Sachverständige sich dieser Fehlerquelle nicht bewußt ist —, daß, falls während der Beschickung einer Versuchsreihe mit Antiserum der Vorrat der ersten Tube nicht ausreichen sollte, diesem oder jenem Röhrchen vielleicht noch einige weitere Tropfen aus der frischen Tube zugesetzt werden, und dies Serum der zweiten Tube kann eben, wenn nicht darauf geachtet wird, einem anderen Kaninchen entstammen. Solche Mißgriffe dürften bei der Anwendung der Serummethode in der Fleischbeschau um so eher möglich sein, als hier die Versuche mehr en gros vorgenommen werden und naturgemäß nicht mit derselben peinlichen Sorgfalt ausgeführt werden können wie in der forensischen Praxis. Diese Fehlerquelle sollte daher in jeder Abhandlung, welche die praktische Anwendung der biologischen Eiweißprobe behandelt, streng hervorgehoben werden. Dies ist meines Wissens bis jetzt nicht getan worden.

Zusammenfassung:

Obgleich längst erkannt wurde, daß für die Fleischdifferenzierung ein Serum, welches auch die Muskeleiweißstoffe zu präcipitieren vermag, einem einfachen Blutserum vorzuziehen ist, so mußte die Praxis doch bisher auf die Verwendung eines solchen Muskeleiweiß-Antiserums verzichten, weil die Darstellung desselben mit fast unüberwindlichen Schwierigkeiten verknüpft zu

[1]) Obermeyer u. Pick, Wien. klin. Wochenschr. **15**. — Ascoli, Münch. med. Wochenschr. **1902**, 1409. — Hamburger, Wien. klin. Wochenschr. **15**, 1188. — Nuttall, Blood Immunity and Relationship **1904**, 129. Hier Literaturangaben.

sein schien: Das Injektionsmaterial — Fleischpreßsaft oder Auszüge — wurde von den Kaninchen nicht vertragen, infolge der giftigen Eigenschaft desselben gingen die Tiere schnell zugrunde (Piorskowski, Ascoli, Grund). Nur Nötel und Ruppin scheint es gelungen zu sein, ihre Tiere durchzubringen; doch haben diese Autoren nur schwach wirksame Sera erzeugen können.

Aus den Versuchen des Verfassers geht hervor, daß die bisherigen Mißerfolge einzig und allein der Tatsache zuzuschreiben sind, daß alle Autoren verschiedener Gründe wegen den Preßsaft unfiltriert injiziert haben. Die Versuche des Verf. zeigen, daß der Saft durch Berkefeldkerzen filtriert werden kann und daß der durch die Filtration verursachte Verlust an wirksamen Eiweißstoffen für die Immunisierung ohne Belang ist; vor allem aber, daß dieser filtrierte Saft, in auffallendem Gegensatz zum unfiltrierten, von den Kaninchen ausgezeichnet vertragen wird. Die stark giftige Eigenschaft des unfiltrierten Saftes beruht daher allein auf Bakterien, welche durch die Berkefeld-Filtration beseitigt werden können und nicht etwa auf Toxalbuminen oder einer an sich giftigen Eigenschaft der Muskeleiweißstoffe. Der filtrierte Saft ist in der Tat in hohem Maße zur Immunisierung geeignet; er erzeugt schon nach wenigen Injektionen ein Serum, welches nicht nur reich an Muskeleiweiß-, sondern auch an Bluteiweiß-Präcipitin ist. Für die Untersuchung von Fleisch und Fleischwaren sollten solche Preßsaft-Antisera auf Grund ihrer doppelten Reaktionsfähigkeit, wodurch man von dem im Fleisch unter Umständen nur spärlich vorhandenen Bluteiweiß ganz unabhängig ist, ausschließlich benutzt werden.

Die Angaben Piorskowskis, welcher durch Injektionen von chemisch stark veränderten Muskeleiweißstoffen (Alkalialbuminaten) ein spez. Serum erzeugte, mit Hilfe dessen er imstande war, Auszüge aus frischem Fleisch der Herkunft nach zu unterscheiden, konnten nicht bestätigt werden.

Über die Inosinsäure.[1])

Von

C. Neuberg und B. Brahn.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

Aus den Untersuchungen von J. von Liebig[2]), Gregory[3]), Creite[4]), Limpricht[5]) und Haiser[6]) wissen wir, daß die Inosinsäure ein konstanter Bestandteil des Muskelfleisches ist, da sie unter den Extraktivstoffen des Fleisches sowohl von Säugetieren wie von Vögeln und Fischen aufgefunden ist. Das Interesse, das eine solche Verbindung beansprucht, wurde noch durch die Entdeckung von F. Haiser (l. c.) im Jahre 1895 erhöht, daß diese Substanz phosphorhaltig ist und daß sie nicht die von Liebig aufgestellte Formel $C_{10}H_{14}N_4O_{11}$, sondern die Zusammensetzung $C_{10}H_{13}N_4PO_8$ besitzt.

Der Phosphor, den alle früheren Autoren trotz der beträchtlichen Höhe von 8,9% übersehen hatten, ist in der Inosinsäure in Form einer gepaarten Phosphorsäure zugegen. Haiser hat weiter mitgeteilt, daß der nach Abzug der Phosphorsäure verbleibende organische Rest keine einfache chemische Verbindung ist, sondern daß durch Hydrolyse die Inosinsäure in drei Bestandteile zerfällt: in Phosphorsäure, Trioxyvaleriansäure und Sarkin.

Auf Grund dieser Angaben wird die Inosinsäure zu den Nucleinsäuren gerechnet und gilt für deren einfachsten Vertreter.

---

[1]) Vorgetragen in der Sitzung der Gesellschaft der Charitéärzte vom 27. Juni 1907.

[2]) Annal. d. Chemie **62**, 317, 1847.

[3]) Annal. d. Chemie **64**, 107, 1848.

[4]) Zeitschr. f. rat. Med. **36**, 195.

[5]) Annal. d. Chemie **133**, 301, 1865.

[6]) Monatsh. f. Chemie **16**, 190, 1895.

Abgesehen hiervon beansprucht diese Substanz auch insofern Interesse, als sie einer der Phosphor in organischer Bindung enthaltenden Bestandteile des Muskelfleisches ist.

Da Versuche zur Synthese von Nucleinsäuren von den am einfachsten gebauten Repräsentanten dieser Körperklasse ihren Ausgang nehmen werden, schien die Konstitutionsermittelung der Inosinsäure besonders wichtig, zumal sie bisher die einzige (in Form ihrer Salze) wirklich krystallisierende, garantiert reine Nucleinsäure ist.

In erster Linie war es nötig, die Natur des Spaltungsproduktes „Trioxyvaleriansäure" aufzuklären. Von vornherein war das natürliche Vorkommen einer solchen Verbindung, $C_4H_9O_3$-COOH, nicht besonders wahrscheinlich. Es hat sich denn auch ergeben, daß das von Haiser als Spaltprodukt der Inosinsäure isolierte Produkt eine andere Konstitution hat; es handelt sich gar nicht um eine Säure, sondern um eine neutrale Verbindung, ein Kohlehydrat, um eine Pentose, die bei der Hydrolyse frei wird.

Beachtet man, daß die Zucker der Fünfkohlenstoffreihe die selbe Bruttozusammensetzung wie die hypothetische Trioxyvaleriansäure $= C_5H_{10}O_5$ haben, so wird durch unsere Feststellung an der Totalformel der Inosinsäure nichts geändert.

Auf die richtige Spur wurden wir durch die Beobachtung geführt, daß einmal die Inosinsäure exquisite Pentosenreaktionen mit Orcin und Phloroglucin gibt und daß sie zweitens ein erhebliches Drehungsvermögen besitzt, das bisher übersehen worden ist.

Die quantitative Bestimmung des Pentoserestes, die anfangs auf unvorauszusehende Schwierigkeiten stieß (siehe den experim. Teil), ergab, daß 1 Mol. dieses Zuckers zugegen ist.

Auch die Natur der Pentose haben wir feststellen können; es handelt sich um die l-Xylose, denselben Zucker, der sich auch am Aufbau des Pankreas-Nucleoproteids beteiligt (Neuberg[1])) und später als entsprechendes Spaltungsprodukt anderer Kerneiweißkörper (Wohlgemuth[2])) nachgewiesen wurde.

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 35. 1467, 1902.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 37, 475, 1904.

Haisers Angabe über die Beteiligung eines Purinkörpers am Aufbau der Inosinsäure können wir bestätigen, wir fanden nach der Hydrolyse genau 1 Mol. Hypoxanthin. Ferner haben wir den Gehalt an Phosphorsäure nochmals bestimmt und die einem Atom P entsprechende Menge gefunden.

Die für die Inosinsäure aus ihren krystallisierenden Salzen abgeleitete Formel ist $C_{10}H_{13}N_4O_8P$; aus den obigen Angaben geht hervor, daß ihre quantitative Aufteilung gelungen ist; die genannten Spaltungsprodukte entstehen bei der Hydrolyse unter Aufnahme von 2 Mol. Wasser:

$$C_{10}H_{13}N_4O_8P + 2\,H_2O = H_3PO_4 + C_5H_{10}O_5 + C_5H_4N_4O\,.$$

Auf Grund dieser Daten kann man nunmehr daran denken, eine ungefähre Konstitutionsformel für die Inosinsäure aufzustellen[1]). Dabei sind die folgenden Punkte in Betracht zu ziehen:

1. Die Inosinsäure reduziert Fehlingsche Lösung nicht; demnach kann die Aldehydgruppe der l-Xylose nicht frei vorhanden, sondern sie wird wie in den Glucosiden durch esterartige Bindung festgelegt sein.

2. Nach der Hydrolyse stellt sich Reduktionsvermögen ein; man findet jedoch, daß zu einer Zeit, wo alles Hypoxanthin bereits abgespalten ist, noch nicht die ganze Menge der Pentose in freier reduzierender Form auftritt, sondern zum Teil als gepaarte Verbindung mit Phosphorsäure, als die „Trioxyvalerianphosphorsäure" von Haiser zugegen ist. Dieser Phosphorsäureester ist recht beständig und zerfällt nur langsam. Daraus folgt, daß die Pentose an die Phosphorsäure direkt und nicht durch Vermittlung des Hypoxanthins gebunden ist.

3. Aus den wichtigen Untersuchungen von R. Burian[2]), die durch entsprechende Beobachtungen von T. B. Johnson[3]) gestützt werden, geht hervor, daß aller Wahrscheinlichkeit nach das Stickstoffatom 7 des Purinringes in unmittelbarer Bindung mit dem P-Atom der Phosphorsäure steht und daß die

---

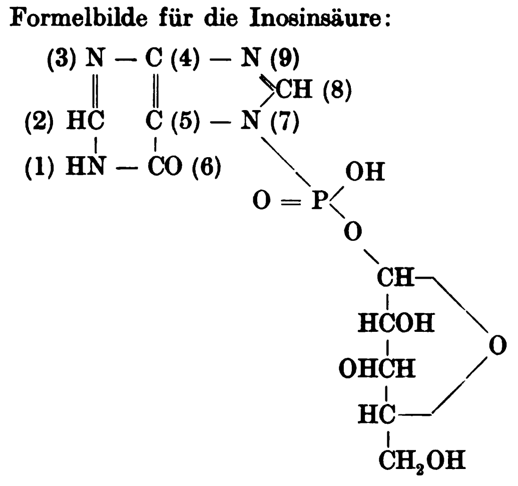
[1]) Unter der Voraussetzung, daß die Säure monomolekular ist und nicht von einer Polyphosphorsäure deriviert.

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **37**, 696, 1904; Zeitschr. f. physiol. Chemie **51**, 425, 1907.

[3]) Americ. chem. Journ. 34, 191, 1905.

früher angenommene[1]) Verknüpfung der Purine durch ein Sauerstoffatom mit dem Rest der Nucleinsäure kaum in Betracht zu ziehen ist.

Unter Würdigung dieser Tatsachen gelangt man zu etwa folgendem Formelbilde für die Inosinsäure:



Dabei ist selbstverständlich, daß u. a. die Anhydridbildung zwischen Phosphorsäure und der l-Xylose auch an einer anderen Hydroxylgruppe als der angenommenen vor sich gegangen sein kann.

Besonders hervorgehoben zu werden verdient, daß die der Inosinsäure zugrunde liegende l-Xylosephosphorsäure der erste in der Natur aufgefundene Vertreter der Pentosephosphorsäureester ist und ein Analogon der lange bekannten und weit verbreiteten Glycerinphosphorsäure darstellt.

Schon früher ist eine glucosidähnliche, d. i. esterartige Bindung der Pentose in den Nucleinsäuren von Neuberg[2]), auf Grund von Versuchen von C. Neuberg und R. Milchner[3]) angenommen worden.

Nun enthalten viele Nucleoproteide sowohl Pentosen als Phosphorsäure. Es liegt also die Annahme nicht so fern, daß

---

[1]) Zeitschr, f. physiol. Chem. 31, 425, 1900.

[2]) Ergebn. d. Physiol. 3, 373, 1904.

[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1904, No. 41. Damals ist allerdings unter dem Einfluß des — jetzt widerlegten — Glycerinbefundes in der Pankreasnucleinsäure die Veresterung der l-Xylose mit Glycerinphosphorsäure (statt mit Phosphorsäure selbst) befürwortet worden.

diesen Verbindungen eine Pentosenphosphorsäure zugrunde liegt, ebenso wie den Lecithinen die Glycerinphosphorsäure.

Diese letztgenannte Verbindung hat J. Bang[1]) als Grundsubstanz der Pankreasnucleinsäure angesehen; allein Bangs Angaben konnten von Levene[2]), Levene und Stookey[3]), Jones und Whipple[4]) nicht bestätigt werden, und jüngst haben O. v. Fürth und E. Jerusalem[5]) gezeigt, daß die Pankreasnucleinsäure entgegen Bangs Behauptung kein Glycerin enthält. Also auch die Pankreasnucleinsäure nimmt keine Sonderstellung ein, und in keiner anderen Nucleinsäure ist bisher Glycerin gefunden worden.

Wie zuerst A. Kossel gezeigt hat, enthalten die Nucleinsäuren in vielen Fällen zwei Kohlehydratgruppen, eine Furfurol liefernde und eine Lävulinsäure gebende; die erstere wird in der Regel auf die Pentose, die letztere auf eine noch nicht festgestellte Hexose zurückgeführt. Durch partiellen Abbau[6]) der Nucleinsäuren läßt sich vielleicht der Beweis erbringen, daß hier Pentosephosphorsäure sowie eine Hexosephosphorsäure resp. beide vorkommen.

Die bisher in dieser Richtung gemachten Erfahrungen (Kossel und Neumann, Levene, Bang) sprechen durchaus hierfür; der möglichen Existenz von Hexosephosphorsäure gedenkt übrigens jüngst auch H. Steudel[7]) gelegentlich anderer Auseinandersetzungen. Das Vorkommen von Kohlehydratphosphorsäureestern erscheint um so wahrscheinlicher, als die bekannten Schwefelsäureester der Zuckerarten, wie sie in den Glucothionsäuren von Levene und Mandel und in der Chondroitinschwefelsäure vorliegen, im Tierkörper und der sehr ähnliche

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **26**, 133, 1898; **31**, 411, 1900; Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 175, 1904.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **37**, 402, 1903; **41**, 4, 1903; **43**, 199, 1904.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **41**, 404, 1904.

[4]) Americ. Journ. of Physiol. **7**, 424, 1902.

[5]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **10**, 174, 1907.

[6]) Vgl. die Thyminsäure von Kossel und Neumann (Zeitschr. f. physiol. Chemie **22**, 77, 1897) und die durch teilweise Hydrolyse der Milznucleinsäure von Levene (Zeitschr. f. physiol. Chemie **45**, 374, 1905) und der Thymusnucleinsäure von Bang (Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 340, 1904) erhaltenen Complexe.

[7]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **48**, 425, 1906.

Inositphosphorsäureester im Pflanzenreiche (**Posternak**, E. **Schulze** und E. **Winterstein**) weit verbreitet sind[1])

Beachtet man ferner, daß die Muttersubstanzen der Nucleinsäuren, die Nucleoproteide, — soweit bisher bekannt — alle mindestens eine Kohlehydratgruppe enthalten, so ist es durchaus denkbar, daß es von einer mehr oder minder fortgeschrittenen Verseifung der Phosphorsäureester während der Verarbeitung abhängt, ob man überhaupt und wieviel Kohlehydrate der 5- und 6-Kohlenstoffreihe schließlich in den Nucleinsäuren findet.

Die weitgehende **Ähnlichkeit** der Inosinsäure mit den gewöhnlichen Nucleinsäuren tritt auch in einigen äußerlichen Merkmalen zutage, wie im Phosphorgehalt und dem Verhältnis von $\frac{C}{P}$ sowie $\frac{P}{N}$, das man zur Charakterisierung dieser Körperklasse heranziehen will; ersterer beträgt 8,9%, letzteres $\frac{10}{1}$ resp. $\frac{1}{4}$, Zahlen, die von den entsprechenden Werten für typische Nucleinsäuren tierischer Herkunft nicht erheblich abweichen.

---

[1]) Diese letztgenannte Substanz wird von **Posternak** (Compt. rend. **137**, 439, 1904) als Formaldehydphosphorsäureester (Anhydro-oxymethylen-diphosphorsäure) der Formel $(OH)_2 \cdot OP - O \cdot CH_2 - O \cdot - CH_2 \cdot O - PO(OH)_2$ aufgefaßt; bekanntlich geht sie beim einfachen Kochen mit Mineralsäuren in wenigen Minuten quantitativ in **Inosit** über, nach der hypothetischen Gleichung: $3\,C_2H_8P_2O_9 + 3\,H_2O = 6\,H_3PO_4 + C_6H_{12}O_6$. Eine solche und dazu derartig schnelle Kondensation des Formaldehyds ist nun nicht gerade wahrscheinlich, und es ist vielleicht angebracht, in dieser Säure einen **präformierten** Inositring anzunehmen und sie von einer Polyphosphorsäure abzuleiten (siehe die folgende oder eine ähnliche Formel), falls die Verbindung nicht überhaupt wasserärmer ist:

```
                     O
                   /   \
              (OH)3P     P(OH)3
                 |         |
                 O         O
                  \       /
                   HC - CH
                   |     |
                   |     |
 (OH)3P - O - HC         CH - O - P(OH)3
        /      |         |        \
       O       |         |         O
        \      |         |        /
 (OH)3P - O - HC    -    CH - O - P(OH)3 .
```

Eine Sonderstellung — sie hat auf Grund der früher bekannten analytischen Daten schon Kossel[1]) betont — nimmt die Inosinsäure durch folgende Eigenschaften ein: Krystallisierbarkeit ihrer Salze, den einfachen Aufbau aus nur drei Komponenten, den enorm hohen Pentosengehalt (348 g Inosinsäure enthalten 150 g l-Xylose = 43,1 %) und die Beteiligung eines Oxypurins an ihrer Bildung.

Burian[2]) hat darauf hingewiesen, daß von den eigentlichen Purinkörpern nur Adenin und Guanin, nicht aber Hypoxanthin und Xanthin in den Nucleinsäuren vorgebildet und daß die gegenteiligen Befunde stets auf sekundäre Veränderungen des Ausgangsmaterials zurückzuführen sind, namentlich auf Autolyse, bei der die Aminopurine in Oxypurine übergehen. Es muß dahingestellt bleiben, ob die aus Fleischextrakt dargestellte Inosinsäure ein ähnlich verändertes oder präformiertes Produkt darstellt.

Über die optischen Eigenschaften der höheren Nucleinsäuren ist wenig bekannt, und es wäre interessant, festzustellen, ob sie lävogyr wie die Inosinsäure sind oder sich anders verhalten. Abgesehen von den Kohlehydraten haben die Spaltungsprodukte der Nucleinsäuren (H_3PO_4, Purine, Pyrimidine) kein asymmetrisches Kohlenstoffatom, doch könnten solche vielleicht durch die Art der Verknüpfung entstehen.

Die Nucleoproteide, die sich aus Nucleinsäuren plus linksdrehenden Proteinen zusammenfügen, sind bekanntlich wiederholt dextrogyr befunden (A. Gamgee und W. Jones[3]).

Die zu den folgenden Untersuchungen benutzte Inosinsäure ist sämtlich aus Fleischextrakt dargestellt; derselbe ist uns von der Liebig-Fleischextrakt-Company in Antwerpen in liberalster Weise zur Verfügung gestellt, wofür wir der Gesellschaft auch an dieser Stelle besten Dank sagen.

In allen Fällen gingen wir von dem schön krystallisierten Bariumsalz aus, das wir nach Haisers Vorschrift aus der Silberverbindung darstellten. Dasselbe hat die Zusammen-

[1]) Vgl. Zeitschr. f. physiol. Chemie **37**, 429, 1901. Kossel hatte früher die Inosinsäure mit der Guanylsäure wegen deren angeblich einfachen Baus aus Gründen der Zweckmäßigkeit zu einer Gruppe zusammengefaßt.

[2]) Ergebn. der Physiologie. **5**. 789. 1906.

[3]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 10, 1904.

setzung $C_{10}H_{11}N_4PO_8Ba + 7\frac{1}{2}H_2O$, die wir durch neue Analysen bestätigt gefunden haaben.

Von Eigenschaften der Substanz ist nachzutragen, daß sie in kleinster Quantität intensive Pentosereaktionen mit Orcin und Phloroglucin gibt.

Drehungsvermögen.

Wie erwähnt, ist die recht beträchtliche optische Aktiviät der Inosinsäure bisher übersehen worden. Da die freie Inosinsäure nicht krystallisiert, diente das Bariumsalz für die Bestimmung des Drehungsvermögens. Da letzteres selbst in Wasser sehr schwer löslich ist, wurde eine abgewogene Quantität mit etwas mehr als der berechneten Menge Salzsäure umgesetzt.

0,3062 g Bariumsalz wurden mit stark verdünnter Salzsäure (mit einem Gehalt von 2,5 % HCl) auf 10,0 ccm aufgefüllt; das spez. Gew. dieser Lösung betrug 1,0299.

Im 2-Decimeterrohre war die Drehung = $-1°10'$ bei Na-Licht (oder = $-0,9$ % Glucose bei Auerlicht); daraus ergibt sich

$$[\alpha]_D = -18,5°.$$

Nach 12stündigem Stehen bei Zimmertemperatur (16°) ist das Drehungsvermögen noch ungeändert; daraus folgt, daß die freie Inosinsäure viel beständiger ist, als man aus Haisers Angaben entnehmen kann.

Bestimmung der Phosphorsäure.

0,2088 g Bariumsalz gaben 0,0402 g $Mg_2P_2O_7$.

Berechnet für $C_{10}H_{11}N_4PO_8Ba + 7\frac{1}{2} H_2O$: P = 5,01 %
Gefunden P = 5,30 %.

Hieraus ergiebt sich für die freie Inosinsäure ein Phosphorgehalt von 8,91 %.

Bestimmung des Pentosegehaltes.

Zur Bestimmung der Pentose in tierischen Organen hat G. Grund[1]) eine Vorschrift angegeben, die im wesentlichen auf

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 35, 113, 1902.

den von B. Tollens und seinen Mitarbeitern ausgearbeiteten Methoden beruht. Hierbei wird die zu untersuchende Substanz (5 g) mit 100 ccm HCl (D = 1,06) in einem Kolben mit seitlichem Ansatz destilliert, bis 50 ccm übergegangen sind; dann werden durch einen Hahntrichter 50 ccm derselben Salzsäure nachgefüllt und wieder abdestilliert. Die Destillation wird auf diese Weise fortgesetzt, bis 200 ccm übergegangen sind. Das Furfurol wird dann in bekannter Weise als Phloroglucid gewogen und auf Pentose umgerechnet.

Nach diesem Verfahren erhielten wir zunächst nun Pentosemengen, die zum Schlusse zwangen, daß am Aufbau der Inosinsäure außer einem Fünfkohlenstoffzucker noch eine zweite N- und P-freie Substanz beteiligt sei. Auf der Suche nach letzterer fanden wir dann aber, daß der Destillationsrückstand noch sehr starke Orcin- und Phloroglucinreaktion gab. Damit war bewiesen, daß die von Grund angegebene, übliche Destillationsdauer im vorliegenden Falle nicht ausreicht.

Es wurde nun die Destillation derart durchgeführt, daß — nach entsprechender Nachfüllung — nicht die doppelte Menge der ursprünglich vorhandenen Salzsäure vom spez. Gew. 1,06 abdestilliert, sondern so lange destilliert wurde, bis kein Furfurol mehr überging. Hierzu sind mehrere Stunden erforderlich, und die abzudestillierende Menge beträgt etwa die zehnfache Quantität der ursprünglichen. Dann sind auch die Pentosenreaktionen im Kolbenrückstand verschwunden.

Bei dieser Verarbeitung von 0,4052 g inosinsaurem Barium erhielten wir eine Furfurolphloroglucidmenge, die 0,0955 g l-Xylose entspricht, während die angegebene Formel der Inosinsäure 0,0983 g verlangt. Eine bessere Übereinstimmung kann nach dem ganzen Wesen der quantitativen Pentosenbestimmung nicht verlangt werden.

Die langdauernde Destillation ist deshalb notwendig, weil die intermediär entstehende l-Xylosephosphorsäure (siehe unten) nur sehr allmählich zerfällt.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß die sich vielfach widersprechenden Angaben über die Menge der Pentosen in Nucleoproteiden und Nucleinsäuren sowie die merkwürdige Tatsache, daß manche dieser Substanzen zwar intensive „Pentosenreaktionen“, aber keinen oder unverhältnismäßig wenig reduzierenden

Zucker bei der Hydrolyse ergeben, auf mehr oder minder feste Veresterung (sowie auf den Puringehalt [siehe im folgenden]) zurückzuführen wären[1]).

Die Konstitution des Fünfkohlenstoffzuckers.

Bei dem hohen Gehalt von 43,1% Pentose in der Inosinsäure sollte man erwarten, daß die Natur dieses Fünfkohlenstoffzuckers relativ leicht zu ermitteln gewesen sei. Bei diesen Versuchen stießen wir jedoch auf unerwartete Schwierigkeiten. Diese beruhten in folgendem.

Bei der Hydrolyse durch Säuren wird die Pentose im Maße, wie sie entsteht, unter Bildung von Furfurol teilweise zersetzt; letzteres ist in den entweichenden Dämpfen leicht nachzuweisen; ein anderer Teil bleibt aber als Phosphorsäureester unzerlegt (siehe unten), so daß eine quantitative Umwandlung in reduzierenden Zucker unmöglich ist.

Noch folgender Umstand verdient besondere Hervorhebung.

Nach der Hydrolyse der Inosinsäure mit heißen verdünnten Mineralsäuren enthält die Lösung freie, monomoleculare Pentose; trotzdem reduciert die Flüssigkeit Fehling'sche Lösung nicht im geringsten, man erhält allein eine Ausscheidung weißer Kuproverbindungen des Hypoxanthins[2]). Das Ergebnis ist das gleiche, in welchem Stadium der Hydrolyse man auch die Reductionsprobe vornimmt, und zwar deshalb, weil die Loslösung des Purinkörpers schneller als die Abspaltung der Pentose erfolgt.

Dieses Verhalten ist für so stark purinhaltige Flüssigkeiten eigentlich selbstverständlich. Das durch das Reduktionsvermögen der Zuckerarten primär gebildete Kupferoxydul wird sofort von den Purinen mit Beschlag belegt, es entstehen deren farblose Kuproverbindungen und rotes Kupferoxydul kann nicht ausfallen.

---

[1]) Die Mutterlauge der Inosinsäure gibt übrigens noch intensive Pentosenreaktionen, so daß der Gehalt des Fleischextraktes an Pentose jedenfalls nicht so ganz gering ist.

[2]) Die Angabe bei S. Fränkel (Biochemie S. 122), daß Hypoxanthin durch Kupferoxydulsalze nicht fällbar sei, trifft nicht zu; wir überzeugten uns, daß eine verdünnte warme Hypoxanthinlösung sowohl bei saurer, neutraler wie alkalischer Reaktion durch Kuprosalze niedergeschlagen wird,

Entfernt man den Purinkörper zuvor in geeigneter Weise, so gibt sich vorhandener Zucker auch sofort durch sein Reduktionsvermögen zu erkennen.

Prinzipiell ganz die gleichen Verhältnisse bestehen für die komplizierter gebauten Nucleinsäuren. In den zahlreichen Arbeiten über die reduzierenden Kohlehydrate der Nucleoproteide und Nucleinsäuren vermißt man fast stets Angaben, wie die Autoren den störenden Einfluß der Purine auf die Bestimmung der Zuckermenge ausgeschaltet haben. Die Befunde von unzweifelhaften starken Farbenreaktionen auf Kohlehydrate bei der Unmöglichkeit, letztere durch Reduktion nachzuweisen, mögen hierdurch manchesmal ihre Erklärung finden, und andererseits dürften nicht selten die aus der Menge abgeschiedenen Kupferoxyduls usw. berechneten Zuckermengen infolge der Beimengung von Purinkupfer viel zu hoch ausgefallen sein.

Aus dem im folgenden angegebenen Beispiele sind diese Verhältnisse ersichtlich.

1,24 g Inosinsaurer Baryt wurde mit 75,0 ccm 10prozentiger Schwefelsäure versetzt; dann wurde vom Bariumsulfat abfiltriert, auf 150 ccm aufgefüllt und am Rückflußkühler 2½ Stunden lang gekocht. Die schwach gelbgefärbte Lösung wurde mit Barytwasser abgestumpft und mit Bariumcarbonat vollständig neutralisiert. Weder vor noch nach der Neutralisation „reduzierte" die Flüssigkeit Fehlingsche Lösung; durch letztere fiel allein farbloses Hypoxanthinkupfer aus. Nach zwölfstündigem Stehen wurde der Niederschlag von Bariumsulfat und Bariumphosphat abfiltriert und ausgewaschen. Das Filtrat wurde bei etwa 40° eingeengt, von einer kleinen Menge phosphorsaurem Barium abfiltriert, auf etwa 5 ccm konzentriert und dann mit so viel Alkohol von 80% versetzt, daß eben noch keine augenblickliche Fällung eintrat. Es entstand dann sehr bald ein Niederschlag, der nach 48 Stunden abfiltriert und mit Alkohol von 50% ausgewaschen wurde.

Seine Menge betrug 0,25 g; er war reiness Hypoxanthin, $C_5H_4N_4O$, das theoretisch in einer Menge von 0,274 g entstehen kann.

Das Filtrat reduzierte nunmehr nach Verdünnung mit Wasser Fehlingsche Lösung kräftig und in typischer Weise. Die Flüssigkeit wurde jetzt auf ca. 100 ccm mit Wasser verdünnt, mit 2,5 ccm

Phenylhydrazin, gelöst in 3 ccm Essigsäure von 50 %, versetzt und unter Ersatz der verdampfenden Flüssigkeit eine Stunde im Wasserbade erhitzt. Dabei fällt schon in der Wärme nach kurzer Zeit eine amorphe gelblich-weiße Masse aus, die organisch gebundenen Phosphor enthält und eine nicht weiter untersuchte Phenylhydrazinverbindung der erwähnten Pentosephosphorsäure ist. Sie wurde durch Filtration entfernt, und beim Erkalten schieden sich nunmehr gelbe Osazonkrystalle aus. Dieselben wurden aus heißem Wasser unter Zusatz von etwas Alkohol und wenig Knochenkohle umkrystallisiert. Die Verbindung fällt nun als schön hellgelber Krystallbrei aus, erwies sich jedoch noch als verunreinigt. Die Entfernung des Begleiters erforderte noch zweimaliges Umkrystallisieren. Durch diese Behandlung vermindert sich die Ausbeute nicht unerheblich. Aus zwei Versuchen wurden zusammen 0,4 g Osazon erhalten.

Der Schmelzpunkt lag bei 159—160°.

Die Analyse ergab das Vorliegen von Phenylpentosazon:

0,0912 g Substanz ergaben 13,8 ccm N bei 19° und 759 mm.

Gefunden: N = 17,45 %
Berechnet für: $C_{17}H_{20}N_4O_3$ N = 17,10 %.

Die Art des vorliegenden Zuckers der Fünfkohlenstoffreihe konnte durch Bestimmung des Drehungsvermögens des Osazons ermittelt werden. 0,20 g drehten im Pyridin-Alkoholgemisch[1]) — 0° 12′. Da unter diesen Bedingungen l-Xylosazon ein Drehungsvermögen von — 0° 15′, l-Arabinosazon aber von + 1° 10′ zeigt, ist die fragliche Pentose die l-Xylose[2]).

Zum Schlusse sei noch bemerkt, daß der für die Inosinsäure angenommene Typus von Konstitutionsformel auch mit der von Haiser (aus der Existenz eines basischen Bariumsalzes der Zu-

[1]) Neuberg. Ber. d. deutsch. chem. Ges. 32, 3384, 1899.

[2]) Die Inosinsäure dreht links (s. oben), die l-Xylose rechts. Tatsächlich findet man, daß bei fortschreitender Spaltung das Drehungsvermögen stark sinkt; eine dextrogyre Lösung haben wir jedoch nicht beobachtet; das kann angesichts der erwähnten Verhältnisse bei der Hydrolyse — partielle Zerstörung und unvollständige Zerlegung — nicht wundernehmen. (Selbstverständlich könnte dem l-Xylosazon auch die d-Lyxose zugrunde liegen, doch ist dieser Zucker in der Natur bisher nie beobabachtet worden.)

sammensetzung $[C_{10}H_9N_4PO_8]_2Ba_3$) gefolgerten Tribasizität im Einklange steht. Haiser hatte das Carboxylradikal seiner „Trioxyvaleriansäure“ und zwei Hydroxylreste des Phosphorsäurekomplexes als die salzbildenden Gruppen angesehen. Ein Carboxyl ist in der Inosinsäure überhaupt nicht vorhanden, und die neue Formel enthält nur ein Phosphorsäurehydroxyl. Aber sowohl OH-Reste der l-Xylose als Imid-(= resp. OH-) Gruppen des Hypoxanthins sind salzbildend; speziell Bariumverbindungen sind von fast allen Polyhydroxylkörpern bekannt, und auch gerade vom Hypoxanthin gibt es ein basisches Bariumsalz[1]).

---

[1]) A. Strecker, Annal. d. Chemie 108, 136, 1858.

Notiz über Desaminocystin und Aminoäthandisulfid.

Von

C. Neuberg und E. Ascher.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität zu Berlin.)

Vor einiger Zeit haben wir kurz mitgeteilt[1]), daß man natürliches Cystin mittels salpetriger Säure in eine stickstofffreie, schwefelhaltige Substanz überführen kann, die als Disulfid der α-Oxy-β-thiopropionsäure, $CH_2 \cdot SH - CH \cdot OH - COOH$, zu betrachten ist. Die letztgenannte Verbindung, die linksdrehend ist, sollte reduziert sowie entschwefelt und dadurch in optisch-aktive Glycerinsäure[2]) verwandelt werden. Inzwischen haben E. Fischer und W. A. Jacobs[3]) den aktiven α-Amino-β-Chlorpropionsäureester beschrieben, mit dessen Hilfe die erwähnte Beziehung sich sehr viel leichter herstellen lassen wird. Wir haben deshalb jene Versuche nicht weiter fortgesetzt und beschreiben im folgenden kurz die dargestellten Körper und den bei dieser Gelegenheit ausgeführten Versuch der Kohlen-

---

[1]) Diese Zeitschr. **1**, 380, 1906.

[2]) Über die Konfiguration der Glycerinsäure ist vor $2^1/_2$ Jahren eine unter meiner Leitung ausgeführte Dissertation von M. Silbermann (vgl. Zeitschr. f. physiol. Chemie **44**, 134) veröffentlicht. Diese Untersuchung ging aus von der Aldehydglycerinsäure, die ihrerseits aus Nitrocellulose durch starkes Ätzalkali entsteht. Weitere Beschäftigung mit diesem Gegenstande hat gezeigt, daß die optischen Eigenschaften der Aldehydglycerinsäure schwanken, was bei der komplexen Zusammensetzung der Schießbaumwolle und dem gewaltsamen Verlauf der Reaktion erklärlich erscheint; außerdem ist die Aldehydglycerinsäure selbst ähnlich dem nahe verwandten Glycerinaldehyd gegen Alkali empfindlich. Daher entbehren die aus jenen Versuchen gezogenen Schlußfolgerungen vorläufig der Beweiskraft und sollen auf anderem Wege kontrolliert werden. N.

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **40**, 1059, 1907.

säureabspaltung aus Cystin, die zum Aminoaethandisulfid von S. Gabriel führt:

$$\begin{array}{l} S \cdot CH_2—CH \cdot NH_2—COOH \\ | \\ S \cdot CH_2—CH \cdot NH_2—COOH \end{array} \rightarrow \begin{array}{l} S \cdot CH_2—CH_2 \cdot NH_2 \\ | \\ S \cdot CH_2—CH_2 \cdot NH_2 \end{array}$$

I. Verwandlung von Cystin in das Disulfid der optisch aktiven α-Oxy-β-thiopropionsäure.

Die Einwirkung von Stickoxyden auf Cystin ist schon mehrfach Gegenstand von Untersuchungen gewesen. Gamgee und Deewar[1]) haben durch salpetrige Säure Cystin in Brenztraubensäure übergeführt, beim Kochen mit Salpetersäure erhält man aus Cystin Isäthionsäure[2]) (Oxäthylsulfosäure). Eine gemäßigte Einwirkung ohne weitgehende Veränderungen läßt sich durch genaue Dosierung der salpetrigen Säure bei ihrer Einwirkung auf Cystin erzielen. Bei Behandlung mit etwa der äquivalenten Menge salpetriger Säure kann man Cystin ziemlich glatt desamidieren, d. h. in die entsprechende Verbindung der β-Thioglycerinsäure verwandeln. Die Ausführung des Versuchs gestaltet sich folgendermaßen:

4 g Cystin (1 Mol.) werden unter schwachem Erwärmen in 2 Mol. verdünnter Schwefelsäure (67 ccm Normal-Schwefelsäure) möglichst gelöst. Unter intensiver Eiskühlung läßt man dann $1^1/_2$ Mol. Bariumnitrit (6,6 g) in wässeriger Lösung langsam unter beständigem Schütteln zutropfen, wobei anfangs keine roten Dämpfe aufsteigen dürfen. Man läßt noch einige Zeit in der Kältemischung, dann mehrere Stunden bei Zimmertemperatur stehen, erwärmt nunmehr auf dem Wasserbade, bis keine Gasentwicklung mehr stattfindet, läßt erkalten, setzt gesättigtes Barytwasser bis zur schwach alkalischen Reaktion hinzu und leitet, um den überschüssigen Baryt zu fällen, Kohlensäure ein, bis die Flüssigkeit neutral reagiert. Nun dampft man ein, filtriert nochmals und fällt, wenn auf ein kleines Volumen eingeengt ist, mit Alkohol aus. Das Bariumsalz wird abfiltriert und aus verdünntem Alkohol umgefällt, wobei es sich nicht

---

1) Vergl. Zeitschr. f. physiol. Chemie **5**, 329, 1881.

2) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **35**, 3161, 1902.

deutlich krystallinisch ausscheidet. Die Analyse der Verbindung führt zur Formel: $(C_3H_4SO_3)_2Ba$ =

$$\begin{array}{l} S-CH_2-CH\cdot OH\cdot COO \\ | \\ S-CH_2-CH\cdot CH\cdot COO \end{array} \Big> Ba$$

a) 0,1556 g ergaben 0,1113 g CO_2 und 0,0275 g H_2O.
b) 0,5711 g ergaben 0,3498 g $BaSO_4$.

Berechnet:	Gefunden:
C = 19,09 %	C = 19,15 %
H = 2,12 %	H = 2,16 %
Ba = 36,34 %	Ba = 36,01 %

Die Verbindung ist optisch aktiv und zwar linksdrehend. 0,5078 g drehen in 1-dcm-Rohr $-1°$; spezifisches Gewicht = 1,0318.

$$[\alpha]_D^{22} = -19{,}08°$$
$$(\alpha = -1°,\ l = 1)$$

Die wässerige Lösung des Bariumsalzes zeigt folgendes Verhalten:

Mit Quecksilberchlorid gibt es eine weiße Fällung.

Mit Bleiacetat erhält man eine weiße flockige Fällung, die sich in Natronlauge klar auflöst und beim Erwärmen schnell Schwefelblei abspaltet.

Bleisubacetat gibt eine Fällung, die im Überschuß löslich ist; daraus unvollkommen fällbar mit Ammoniak.

Kupferacetat erzeugt in der Kälte keine Fällung, beim Erwärmen grünlichen Niederschlag.

Cadmiumsulfat bringt keinen Niederschlag hervor.

Silbernitrat gibt eine flockige weiße Fällung eines sehr schwer löslichen Salzes; es wurde gleichfalls analysiert. Zu diesem Zwecke wurde es abgesaugt, nacheinander mit kaltem Wasser, Alkohol und Äther ausgewaschen; die im Dunkelexsiccator zur Gewichtskonstanz getrocknete Verbindung ergab folgende Werte:

a) 0,1612 g ergaben 0,0926 g CO_2 und 0,0226 g H_2O.
b) 0,2054 g ergaben 0,1296 g AgCl.

Berechnet:	Gefunden:
C = 15,78 %	C = 15,66 %
H = 1,75 %	H = 1,71 %
Ag = 47,37 %	Ag = 47,21 %

Das Silbersalz färbt sich am Licht bald braun.

Durch genaue Ausfällung mit H_2SO_4 wurde aus dem reinen Bariumsalz das freie Disulfid der β-Thio α-oxypropionsäure gewonnen. Seine wässerige Lösung ist linksdrehend und zwar betrug $[\alpha]_D$ = ca. $-10,6°$

($\alpha = -0,68°$, $l = 2$, c = ca. 3,21)

Durch Behandlung mit Zinn und starker Salzsäure läßt sich das Disulfid bei Wasserbadwärme zur entsprechenden Mercaptoverbindung, zur α-Oxy-β-thiopropionsäure, reducieren. Nach Ausfällung des Zinns mit H_2S und Konzentration im Vakuum hinterbleibt eine Substanz, die mit $CuSO_4$, $FeCl_3$ und Nitroprussidnatrium + KOH ganz ähnliche Farbenreaktionen wie Cysteïn und Thiomilchsäure gibt und beim Erwärmen mit alkalischer Bleilösung ebenfalls bald Bleisulfid abspaltet.

II. Überführung von Cystin in Aminoäthandisulfid.

Die Abspaltung von Kohlensäure aus den Aminosäuren ist ein physiologisch äußerst wichtiger Vorgang, der z. B. im Tierkörper (Emerson, Langstein), ferner bei der Fäulnis (E. Salkowski, M. Nencki) und bei der Hefegärung (F. Ehrlich) stattfindet. Wenn auch die bakterielle Zersetzung des Cystins so verläuft, daß unter weitgehender Zertrümmerung des Moleküls Schwefelwasserstoff, Ammoniumthiosulfat, Methylmercaptan und Äthylsulfid auftreten[1]), so war der Versuch doch von Interesse, die rein chemische Zersetzung des Cystins so zu leiten, daß durch einfache Kohlensäureabspaltung das Diaminoäthylendisulfid entstand. Diese Verbindung ist auf verschiedenen Wegen von S. Gabriel[2]) und seinen Mitarbeitern synthetisch erhalten, und sie ist vielleicht die Muttersubstanz jener erwähnten Produkte, die bei intensiver Eiweißfäulnis gebildet werden.

Tatsächlich gelingt es auch, dasselbe Aminoäthandisulfid aus

---

1) J. Wohlgemuth, Zeitschr. f. physiol. Chemie **40**, 81, 1903; **43**, 469. 1904.

2) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 22, 1138, 1889 u. 24, 1123 u. 2133, 1891.

dem Cystin, wenn auch in kleiner Menge, durch Kohlensäureabspaltung darzustellen.

Zu diesem Zwecke werden 10 g reines, mehrfach umkrystallisiertes Proteincystin in einem kleinen Fraktionierkolben vorsichtig mit freier Flamme erwärmt. Dabei entweichen intensiv nach Schwefelammonium riechende Gase, und in der Vorlage kondensieren sich Öltröpfchen, die in einer wässerigen Flüssigkeit schwimmen und starke Pyrrolreaktion geben. Die Wände und der Hals des Destillationskolbens bedecken sich mit einem gelben, zähen, schwefelhaltigen Öle, das aus dem Destillationsgefäß mit heißem Alkohol herausgelöst und durch Filtration von kohligen Zersetzungsprodukten getrennt wird. Die alkoholische Flüssigkeit wird mit verdünnter Salzsäure schwach angesäuert und auf dem Wasserbade eingeengt. Dabei hinterbleibt ein halb fester, halb flüssiger Rückstand, der mit siedendem Alkohol ausgelaugt wird. Der alkoholische Auszug wird in der Wärme mit Knochenkohle entfärbt, wieder zur Trockne eingedampft, nochmals mit heißem absoluten Alkohol aufgenommen und nach der Filtration wiederum eingeengt. Der schwach gelb gefärbte Rückstand wird sodann in wenig Wasser gelöst, die leicht getrübte Flüssigkeit durch Filtrieren geklärt und mit kalter, gesättigter Pikrinsäurelösung versetzt. Sehr schnell beginnt die Abscheidung eines gelben Krystallmehles, das nach 24stündigem Stehen abgesaugt und mit kaltem Wasser gewaschen wurde. Die Verbindung, die noch vereinzelte braune Schollen enthielt, zeigte den Schmelzpunkt 193°, der nach einmaligem Umkrystallisieren aus heißem verdünnten Alkohol auf 197° stieg.

Die Analyse zeigt, daß hier das Pikrat des Diaminoäthylendisulfids.

$$\begin{array}{l} S-CH_2-CH_2-NH_2 \\ | \\ S-CH_2-CH_2-NH_2 \end{array} \cdot 2\,C_6H_3N_3O_7$$

vorliegt, dessen Schmelzpunkt S. Gabriel zu 198—200° angibt.

Analyse: $(C_2H_6NS)_2 \cdot 2\,C_6H_3N_3O_7 = C_{16}H_{18}O_{14}N_8S_2$

a) 0,1340 g ergaben 21,6 ccm N bei 759 mm und 18°.

b) 0,2424 g ergaben 0,1908 g Ba SO_4 (= 0,0262 g S.).

Berechnet:	Gefunden:
N = 18,36 %	N = 18,51 %
S = 10,50 %	S = 10,84 %

Die Ausbeute an dem Pikrat betrug 0,98 g; beim Arbeiten mit kleineren Mengen als 10 g Cystin konnte dieses Produkt einer einfachen Kohlensäureabspaltung nicht isoliert werden.

Über die α-Naphthylisocyanatverbindungen einiger Aminosäuren.

Von

C. Neuberg und E. Rosenberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin).

Vor einiger Zeit haben C. Neuberg und A. Manasse[1]) angegeben, daß in vielen Fällen die α-Naphthylisocyanatverbindungen der Aminosäuren zu ihrer Charakterisierung gut geeignet sind; denn die Darstellung dieser vielfach sehr schwer löslichen Produkte ist recht einfach und wenig zeitraubend, die Ausbeute meistens gut.

Das Verfahren eignet sich außer zur Charakterisierung der α-Aminosäuren zur Bestimmung von Oxyaminosäuren und Aminosäuren mit anderer Stellung der Aminogruppe.

Folgende Naphthylcyanatverbindungen wichtiger Aminosäuren wurden noch dargestellt.

α-Naphthylisocyanat-l-Alanin.

0,9 g l-Alanin wurden in 60 ccm Wasser gelöst, mit 10 ccm Normalnatronlauge versetzt und mit 2 g α-Naphthylisocyanat öfter geschüttelt. Nach etwa einer Stunde wird vom ausgefallenen Dinaphthylharnstoff abfiltriert, dieser gut ausgewaschen und das Filtrat mit Salzsäure angesäuert. Die Flüssigkeit erstarrt zu einem Brei der Naphthylhydantoinsäure, der nach mehrstündigem Stehen in der Kälte abgesaugt und aus heißem verdünntem Alkohol umkrystallisiert wurde.

Die Ausbeute an umkrystallisiertem Produkt betrug 87,4% der Theorie. Es bildet weiße Nadeln vom Schmelzpunkt 202°

---

1) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 38, 2359, 1905.

(unter Aufschäumen), schmilzt also 4° höher als das sonst sehr ähnliche α-Naphthylcyanat-d,l-Alanin.

0,1190 g Substanz ergaben 11,1 ccm N bei 18,5° und 769 mm. Gefunden N = 10,92; berechnet für $C_{14}H_{14}O_3N_2$: N = 10,85%.

α-Naphthylisocyanat-d-Isoleucin

entsteht auf die gleiche Weise aus 0,36 g reinem aktivem Isoleucin[1]), 5 ccm Normalnatronlauge, 60 ccm Wasser und 0,8 g α-Naphthylisocyanat. Die Ausbeute betrug 83%. Weiße Nadeln, die bei 176° erweichen und unter Aufschäumen bei 178° schmelzen; sie sind ein sehr charakteristisches Derivat des Isoleucins.

0,1230 g Substanz ergaben bei 22° und 756 mm 10,2 ccm N. Gefunden N = 9,34%; berechnet für $C_{17}H_{20}O_3N_2$: N = 9,33%.

α-Naphthylisocyanat-l-Asparaginsäure.

Diese Hydantoinsäure wurde auf dieselbe Art aus 1,33 g l-Asparaginsäure, 20 ccm Natronlauge, 2 g α-Naphthylisocyanat und 60 ccm Wasser erhalten. Die Verbindung scheidet sich zunächst gallertartig ab, liefert aber bei wiederholtem Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol undeutliche Nädelchen, die bei 96° erweichen und bei 115° unter Schäumen schmelzen. Die Ausbeute an Rohprodukt ist fast quantitativ, sie sinkt jedoch bei geringerer Konzentration der Asparaginsäurelösung. Am bequemsten führt man die Verbindung in das weiter unten beschriebene Kupfersalz über.

0,1486 g Substanz ergaben 0,3245 g CO_2 und 0,06417 g H_2O.

0,1475 g Substanz ergaben bei 18° und 762 mm 12,0 ccm N.

Gefunden C = 59,6%; H = 4,8%; N = 9,45%; berechnet für $C_{15}H_{14}O_5N_2$: C = 59,6%; H = 4,6%; N = 9,27%.

α-Naphthylisocyanat-l-Asparagin

entsteht wie die Asparaginsäureverbindung aus 1,32 g Asparagin, 60 ccm Wasser, 10 ccm Normal-Natronlauge und 4 g Naphthylcyanat. Aus verdünntem Alkohol lange weiße Nadeln vom Schmelzpunkt 199°. Die Ausbeute betrug 83%.

0,1246 g Substanz gaben bei 22° und 756 mm 15,3 ccm N.

Gefunden N = 13,89%; berechnet für $C_{15}H_{15}O_4N_3$: N = 13,95%.

---

[1]) Wir verdanken das Präparat der Güte des Herrn F. Ehrlich.

α-Naphthylisocyanat-d-Phenylalanin

entsteht in entsprechender Weise aus 1,65 g d-Phenylalanin, 10 ccm norm. Natronlauge, 60 ccm Wasser und 2,0 g Naphthylcyanat. Durch Umkrystallisieren erhält man farblose Nadeln, die bei 150° erweichen und bei 155° schmelzen.

0,1683 g Substanz ergaben bei 23° und 758 mm 12,2 ccm N.
Gefunden N = 8,4 %; berechnet für $C_{20}H_{18}N_2O_3$; N = 8,38 %.

α-Naphthylisocyanat-Tryptophan.

Von den Stickstoffatomen der Indolaminopropionsäure reagiert unter den eingehaltenen Bedingungen mit dem Isocyanat nur die Aminogruppe der Seitenkette, nicht die Imidgruppe des Pyrrolringes. Die Verbindung entsteht demgemäß aus 2,0 g Tryptophan, 10,0 ccm normal Natronlauge, 50 ccm Wasser und 2,0 g Naphthylcyanat usw. Durch Krystallisation aus heißem Alkohol erhält man mikrokrystallinische Nädelchen, die sich bei 148° dunkel färben und bei 159—160° schmelzen.

0,1026 g Substanz ergaben bei 23° und 754 mm 10,4 ccm N.
Gefunden N = 11,3 %; berechnet für $C_{22}H_{19}O_3N_3$: N = 11,26 %.

Die Verbindung gibt noch die Hopkinsche Reaktion, aber nicht mehr die mit Bromwasser; letzteres erzeugt in einer sehr verdünnten essigsauren Lösung der Substanz eine weißlich-gelbe amorphe Fällung.

α-Naphthylisocyanat-d,l-Serin.

Diese Verbindung entsteht aus 0,52 g Serin, 5 ccm Normalnatronlauge, 1 g Naphthylcyanat in 60 ccm Wasser. Durch Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol erhält man sie in krystallinischen Nadeln vom Schmelzpunkt 192°.

Die Ausbeute betrug 88,9 %.

0,1878 g Substanz ergaben bei 18° und 754 mm 16,4 ccm N.
Gefunden N = 10,09 %; berechnet für $C_{14}H_{14}O_4N_2$: N = 10,2 %.

α-Naphthylisocyanat-δ-Aminovaleriansäure.

Die δ-Aminovaleriansäure, die ihre Aminogruppe an ganz anderem Orte im Molekül enthält, als die bisher hier beschriebenen

Substanzen, reagiert gleichfalls glatt mit dem α-Naphthyl-i-cyanat. Angewendet wurde 1,50 g salzsaure δ-Aminovaleriansäure, 20 ccm Natronlauge, 60 ccm Wasser und 2,0 g Naphthyl-i-cyanat.

Das Rohprodukt bildet eine ganz schwach rosa gefärbte Masse, die in heißem Ammoniak gelöst, durch verdünnte Essigsäure in Form farbloser mikroskopischer Nädelchen ausgefällt wurde. Schmp. 195—196°.

Die Ausbeute betrug ca. 88,0% der Theorie.

0,1966 g Substanz ergaben bei 24° und 758 17,2 ccm N.

Gefunden N = 9,78%; berechnet für $C_{16}H_{18}O_3N_2$: N = 9,79%.

α-Naphthylisocyanat-d, l-Leucylglycin.

Analog dem früher untersuchten Dipeptid Glycyl-glycin reagiert auch das d, l-Leucyl-glycin mit α-Naphthylisocyanat; und zwar bildet sich aus 1,6 g Leucyl-glycin in 60 ccm Wasser usw. 11 ccm Normalnatronlauge und 2 g Naphthylcyanat ein voluminöser Niederschlag, der durch Umkrystallisieren aus heißem Alkohol weiße Nadeln vom Schmelzpunkt 186° gibt.

Die Ausbeute betrug 80,5% der Theorie.

0,1502 g Substanz ergaben bei 17° und 750 mm 15,2 ccm N.

Gefunden N = 11,6%; berechnet für $C_{19}H_{23}O_4N_3$: N = 11,7%.

Für die analytische Praxis von Wert dürfte die schon früher angegebene Tatsache sein, daß die α-Naphthylcyanatderivate Salze bilden. Die Verbindungen mit den Schwermetallen, insbesondere die mit Kupfer und Silber, bieten Interesse, da sie sehr leicht und fast quantitativ entstehen und durch einfaches Verglühen als CuO bez. Ag bestimmt werden können. Die Überführung in diese sehr beständigen Salze kann auch zur Reinigung der Naphthylhydantoinsäuren dienen; empfehlenswert ist sie fener in den Fällen, wo die freien Naphthylcyanatverbindungen gelatinös ausfallen.

Zur Darstellung der Salze löst man die Naphthylhydantoinsäuren in heißem Ammoniak, kocht dessen Überschuß fort, filtriert, wenn nötig, und fällt mit Kupferacetat- bzw. Silbernitratlösung aus. Die Verbindungen kann man absaugen und mit kaltem Wasser, Alkohol und Äther auswaschen.

Als Beispiele führen wir an:

d-l-Alanin-naphthylcyanat-Silber

$$\begin{array}{r} CH_3 - \underset{|}{CH} - COOAg \\ C_{10}H_7NH \cdot CO - NH \qquad\qquad \end{array}$$

0,1474 g Substanz (zur Gewichtskonstanz getrocknet) ergaben 0,0425 g Ag.

Berechnet für $C_{14}H_{13}N_2O_3Ag$: Ag = 29,5 %.
Gefunden: Ag = 28,8 %.

l-Asparaginsäure-naphthylcyanat-Kupfer

$$\begin{array}{l} \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad CH_2 - COO \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \qquad\qquad \rangle Cu \\ C_{10}H_7NH - CO - NH - CH - COO \end{array}$$

0,0954 g Substanz (bei 105° getrocknet) ergaben 0,0206 g CuO (= 0,0165 g Cu).

Berechnet für $C_{15}H_{12}N_2O_5Cu$: Cu = 17,4 %.
Gefunden: Cu = 17,0 %.

Weiter wurde festgestellt, daß die Aminosäuren aus ihren α-Naphthyl-iso-cyanatverbindungen durch Erhitzen mit Barytwasser regeneriert werden können. Hierüber sowie über Erfahrungen, die wir über die Methode gesammelt haben, soll demnächst berichtet werden; schon heute sei erwähnt, daß sie mit besonderem Vorteil in den Fällen anzuwenden ist, in denen nur eine Aminosäure zu erwarten ist.

Autorenverzeichnis.

Aron, Hans. Die Einwirkung von Farbstofflösungen auf die Hitzekoagulation von Eiweißlösungen S. 413.

Ascher, E., siehe Neuberg und Ascher.

Ascoli, M. und G. Izar. Physiopathologische Wirkung kolloidaler Metalle auf den Menschen. S. 394.

Bayer, Gustav. Untersuchungen über die Gallenhämolyse. I. S. 368.

Belonowski, G. Zur Frage der Beziehungen der Toxine zu den Zellenelementen des Organismus. S. 65.

Brahn, B., siehe Neuberg und Brahn.

Brunner, J. und S. N. Pinkus. Beiträge zur Reindarstellung der Antitoxine. I. S. 381.

v. Fenyvessy, B. Über die hämatolytische Wirkung der Gallensäuren und ihrer Salze. S. 114.

— — siehe v. Liebermann und Fenyvessy.

Fuld, E. und J. Wohlgemuth. Über eine neue Methode zur Ausfällung des reinen Caseins aus der Frauenmilch durch Säure und Lab sowie über die Natur der labhemmenden Wirkung der Frauenmilch. S. 118.

Heller, G. Bemerkung zur Theorie der Molekularschwingungen. S. 346.

Izar, G., siehe Ascoli und Izar.

Jolles, Adolf. Notiz über die stickstoffhaltigen Harnbestandteile. S. 419.

Langstein, Leo. Zur Frage nach der Einwirkung verdünnter Schwefelsäure auf Eiweißstoffe. S. 410.

Levene, P. A. und J. A. Mandel. Über die Analyse der Spaltungsprodukte des Milz-Nucleoproteids. S. 33.

v. Liebermann, L. und B. v. Fenyvessy. Über die Wirkung der Verdünnung auf natürliches und künstliches Normal- und Immunserum. S. 99.

Loeb, Jacques. Über die anticytolytische Wirkung von Salzen mit zweiwertigen Metallen. S. 351.

Maass, Th. A., siehe Michaelis und Maass.

Mandel, J. A., siehe Levene und Mandel.

Marchlewski, L. Zur Chemie des Chlorophylls. S. 344.

Michaelis, Leonor und Th. A. Maass. Der Gang der Ausscheidung körperfremder Substanzen. II. S. 1.

— — siehe Rona und Michaelis.

Müller, Erich. Stoffwechselversuche an 32 Kindern im 3. bis

6. Lebensjahre mit besonderer Berücksichtigung des Kraftwechsels auf Grund direkter calorimetrischer Bestimmungen. S. 143.

Neuberg, C. und E. Ascher. Notiz über Desaminocystin und Aminoäthandisulfid. S. 451.

— — und B. Brahn. Über die Inosinsäure. S. 438.

— — und E. Rosenberg. Über die α - Naphthylisocyanatverbindungen einiger Aminosäuren. S. 456.

Österberg, Emil und Charles G. L. Wolf. Eiweiß-Stoffwechsel beim Hund. I. S. 304.

Pinkus, S. N., siehe Brunner und Pinkus.

Rona, P. und L. Michaelis. Weitere Beiträge zur Methodik der Enteiweißung. S. 365.

Rosenberg, E., siehe Neuberg und Rosenberg.

Schmidt, W. A. Untersuchung über die Erzeugung hochwertiger Muskeleiweiß - Antisera für die Fleischdifferenzierung. S. 422.

Tswett, M. Zur Chemie des Chlorophylls. Über Phylloxanthin, Phyllocyanin und die Chlorophyllane. S. 6.

Vandevelde, A. J. J. Über hämolytische Wirkungen isomerer Verbindungen. S. 358.

Wohl, A. Die neueren Ansichten über den chemischen Verlauf der Gärung. S. 45.

Wohlgemuth, J., siehe Fuld und Wohlgemuth.

Wolf, Charles G. L., siehe Österberg und Wolf.



